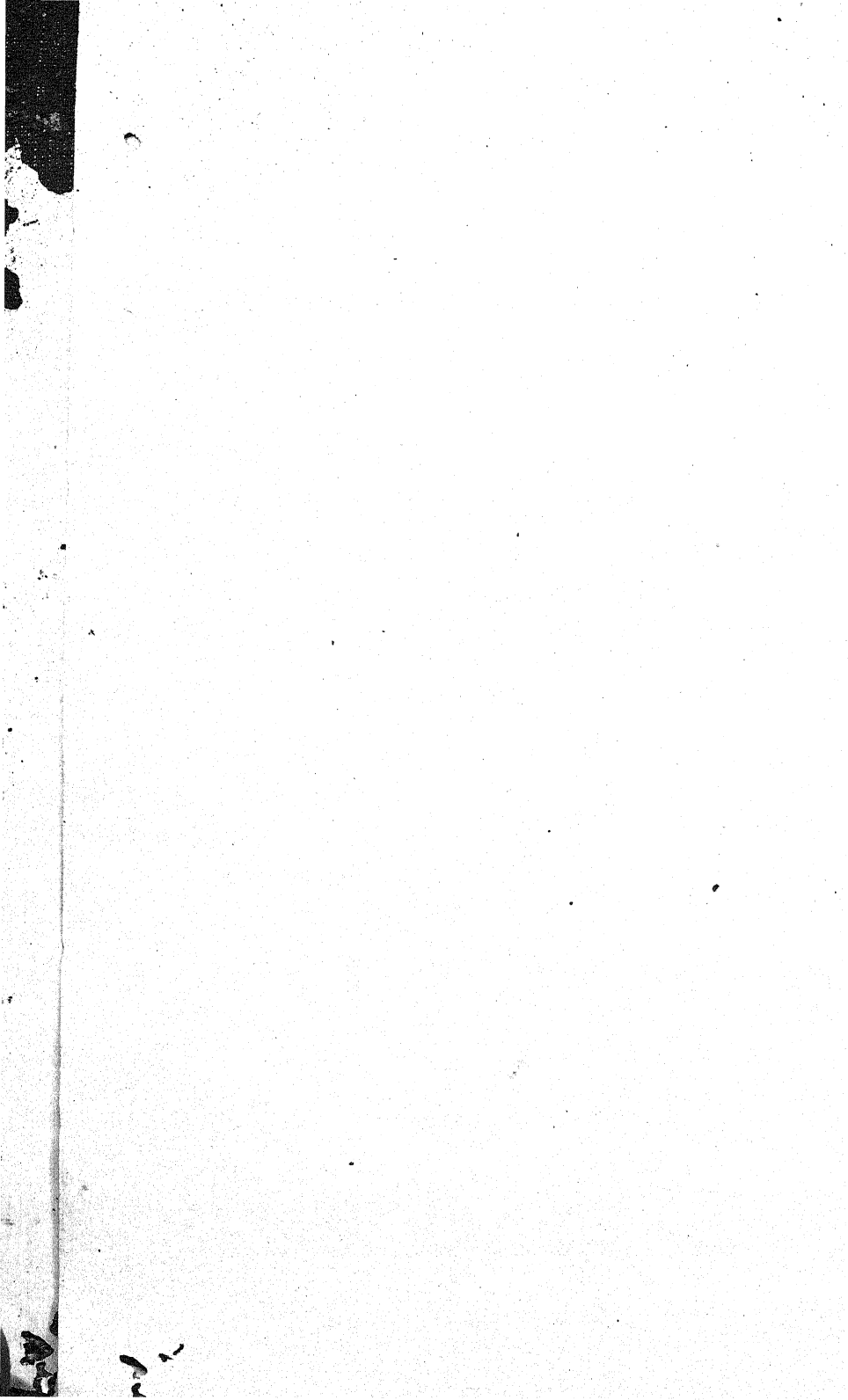


REVUE GÉNÉRALE

DE

BOTANIQUE



REVUE GÉNÉRALE
DE
BOTANIQUE

FONDÉE PAR GASTON BONNIER

DIRIGÉE PAR

M. Marin MOLLIARD

MEMBRE DE L'INSTITUT

DOYEN HONORAIRE DE LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

TOME QUARANTE-HUIT

PARIS
LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT
4, RUE DANTE, 4

1936

CHARLES FLAHAULT

(1852-1935)

par M. Louis EMBERGER

Le célèbre botaniste dont nous déplorons la mort aurait mérité que sa vie et son œuvre fussent retracées par un Maître de la Science contemporaine. Les liens les plus tendres du cœur et de l'esprit, m'ont uni à lui pendant 14 années ; 14 années, pendant lesquelles FLAHAULT fut pour le signataire de ces pages le plus affectueux des Pères, le plus sûr des Maîtres, le meilleur des Amis. C'est la raison du douloureux honneur qui m'échoit ici. Que le cœur supplée à la faiblesse de ma parole pour rappeler la vie d'un homme qui laisse un nom si justement honoré et un exemple si digne d'admiration et d'imitation.

Ch. FLAHAULT était Flamand. Il reçut à Bailleul où il était né le 3 octobre 1852, sa première éducation d'une mère « qui sut enseigner à ses fils, avec une remarquable maîtrise, l'histoire et les langues classiques, aussi bien que les éléments des sciences » (1).

Appartenant à une famille depuis longtemps fixée dans les marches flamandes si souvent le théâtre des conflits armés, issu d'un foyer tout pénétré du principe que la vie « était donnée pour qu'elle fut échangée à chaque instant contre une parcelle de vérité », animé d'une « curiosité tenace de voir et de savoir », Ch. FLAHAULT avait, dès l'enfance, les traits essentiels de son caractère : un cœur épris de l'idéal le plus élevé, un sentiment très haut du travail et du devoir, un amour ardent de la patrie, une profonde religiosité et le désintéressement le plus sincère. Dès sa naissance, le futur savant était incorporé à quelque chose de plus grand que lui : une tradition, une famille, une morale... Il avait ainsi tout ce qu'il fallait pour devenir ce qu'il a été.

(1) Ch. FLAHAULT, Notice sur les Travaux scientifiques de Ch. F., Montpellier, 1918.

Ch. FLAHAULT a dit (1) que sa carrière a été la conséquence naturelle de circonstances favorables. Il attribue ainsi tous les mérites de son œuvre à ceux qui l'ont entouré et secondé de leur bienveillance.

Certes, ces dispositions naturelles étaient trop éclatantes, malgré sa modestie, pour ne pas attirer l'attention et la sympathie des Maîtres qu'il fut amené à fréquenter ; mais, à l'origine de ces circonstances favorables, il y avait avant tout FLAHAULT, un caractère dont la valeur exceptionnelle éclatait, un cœur d'or.

Des esprits chagrins attribuent volontiers la médiocrité de leur carrière au manque de protection ; ils oublient qu'il faut donner pour recevoir, aimer pour être aimé, être dévoué pour être l'objet de dévouement, aider pour être aidé. FLAHAULT, tout jeune et par une tendance naturelle de sa belle âme dirigée par une volonté ferme, s'est toujours donné sans compter ; il a aimé la science, les hommes, la patrie, Dieu, de toutes ses forces. Quel Maître, quel Chef ne l'eut pas remarqué ! On s'impose par les services qu'on rend ; la vie heureuse, féconde, complète de FLAHAULT est là.

Sa mère, aimait-il à répéter, n'avait eu qu'à développer les aptitudes natives de son fils pour faire de lui un naturaliste. Cette vocation se dessina dès les premières promenades familiales dans les Flandres et principalement sur les collines du Kemmel, si tristement célèbres depuis, qui ferment au nord l'horizon de Bailleul. Quelques taillis de Chênes y avaient été exclus du défrichement. La famille FLAHAULT aimait à y rechercher, tous les ans, le *Maianthemum bifolium* et l'*Allium ursinum*, ces raretés du pays. On admirait le *Menyanthes trifoliata*, parure des fossés, et l'*Asplenium Rutamuraria* localisé sur les joints calcaires des murs. Ypres n'était pas loin ; Charles FLAHAULT y reçut les premières impressions d'art.

Les études secondaires, commencées à l'École communale de Bailleul, furent terminées au Collège des Jésuites d'Amiens ; elles complétaient l'enseignement de la Mère qui restera pendant toute la durée de ces études à la base de la formation de FLAHAULT.

Le baccalauréat ès lettres, passé à Douai, termina cette première étape le 12 octobre 1872 ; Ch. FLAHAULT venait d'atteindre sa vingtième année.

(1) *Loc. cit.*

Une grande épreuve avait déjà meurtri son cœur et trempé son caractère : la guerre de 1870. N'ayant pas l'âge de servir comme son frère aîné qui était Lieutenant de Mobiles, Ch. FLAHAULT se rendit utile de son mieux. Il se mit à la disposition du corps de FAIDHERBE, qui opérait dans le Nord de la France, et fut utilisé comme agent de liaison civil. Son agilité et son endurance physiques étaient déjà très grandes ; il pouvait faire 20 km. au pas gymnastique sans poser une seule fois le talon à terre (1) ; aussi bien des plis secrets sont-ils arrivés, grâce à lui, à destination.

La guerre avait ruiné les affaires industrielles de son Père, Ch. FLAHAULT, afin de soulager les charges de ses parents tint à honneur de gagner sa vie. Son penchant très vif pour les Sciences de la Nature, la présence d'un frère aîné, élève de l'École Centrale à Paris, le décidèrent à solliciter son entrée au Muséum. C'est ainsi que Ch. FLAHAULT vint à Paris, muni de son baccalauréat, pour être jardinier au Jardin des Plantes le 1^{er} décembre 1872.

Ch. FLAHAULT, avait comme seul bagage une volonté ardente de travail et un immense désir de devenir un homme. DECAISNE occupait la Chaire de Culture.

Tous ceux qui ont connu DECAISNE ont admiré chez lui un don exceptionnel pour distinguer ceux qui étaient signés du sceau de la Science et aussi... pour repérer les flâneurs.

Les talents qu'il a reconnus et favorisés sont nombreux ; ce Maître, de plus, était l'ami de ceux qui luttèrent avec énergie et qui avaient la vocation. Après les DUCHARTRE, les THURET, les BORNET, les PLANCHON, FLAHAULT bénéficia de la bonté de cet homme de bien qui eut bientôt remarqué son jeune et modeste collaborateur.

DECAISNE après avoir donné à FLAHAULT d'abord des leçons personnelles, le décida à quitter le Muséum pour aborder des études plus élevées.

A cette époque le Baccalauréat ès lettres ne permettait pas l'accès aux hautes études scientifiques. Le premier soin de FLAHAULT fut donc de préparer le Baccalauréat ès Sciences ; il le fit seul en donnant à cette occupation le temps disponible, la journée de 10 h. terminée. Les heures libres, au lieu d'être consacrées au repos ou aux jeux se passaient à la Bibliothèque du Muséum, où, avec son

(1) Ch. F. en fit un jour le pari en se faisant couvrir le talon de craie ; il le gagna.

camarade et ami Jules DAVEAU, il s'instruisait de tout ce qu'il voulait comprendre.

Cette période fut de courte durée (1-XII-72 au 28-II-73), car les lois militaires allaient bientôt appeler le jeune jardinier sous les drapeaux. C'est seulement après son service que le diplôme convoité fut acquis à Paris en mars 1874.

Les aptitudes physiques désignaient tout naturellement Ch. FLAHAULT pour les Chasseurs à pied. Il fut incorporé le 15 mars 1873 sous le matricule 77.84, au 5^e Bataillon, en garnison à Rennes, puis à Laval. Contrairement à beaucoup de jeunes gens, il embrassa l'état militaire temporaire avec un idéal très élevé. Il comprenait pleinement la noble mission de l'Armée et les grands devoirs des hommes de sa génération. L'uniforme lui conférait une parcelle de l'honneur de la France : « J'ai promis le 2 septembre 1870 de ne vivre que pour la France ; je veux tomber dans les harnais » ; tel était l'état d'esprit du chasseur FLAHAULT.

Il s'efforça d'être un chasseur modèle s'appliquant à remplir tous ses devoirs, les plus modestes comme les plus brillants, avec cette rigueur et cette ponctualité dont rien ne pouvait le détourner et que nous trouverons dans toute sa vie. Il rappelait volontiers ses souvenirs militaires sans manquer de faire savoir qu'il était parvenu au grade de caporal. Infatigable, quelle que soit la longueur de la marche, il était le chasseur que son capitaine envoyait en avant pour préparer le logement dans les villages. Il était heureux, lorsque tout était prêt au moment de l'arrivée de ses camarades fatigués.

Un jour, le maître de la maison, propriétaire de la grange où le chasseur FLAHAULT avait retenu une place dans la paille, trouva celui-ci si aimable qu'il ne voulut pas qu'il prit les repas de la troupe. « Vous mangerez à la cuisine, avec la bonne » dit ce brave homme pour lui faire plaisir « et voici une bonne bouteille que vous boirez à ma santé ». Ce trait montre le cœur avec lequel FLAHAULT remplissait tous ses devoirs. Il pratiquait déjà les principes qui le dirigèrent toute sa vie : ne rien faire à moitié. Soldat, il l'est de tout son cœur, comme plus tard il sera professeur accompli, animateur d'œuvres charitables pendant la Grande Guerre ou Forestier reboiseur.

Un deuil cruel l'éprouva pendant qu'il accomplissait son service ; son père, miné par les désastres de 1870, mourut le 22 mai 1873.

Ch. FLAHAULT supporta avec résignation chrétienne les règlements militaires qui ne lui donnaient pas droit à une permission pour aller l'embrasser une dernière fois et assister à ses funérailles.

Libéré, Ch. FLAHAULT eut, plus que jamais, des raisons de vivre du fruit de son travail ; mais son frère ayant accepté une belle situation en Algérie, l'aida à devenir étudiant à la Sorbonne ; c'était le 1^{er} avril 1874.

En même temps, sur la recommandation de DECAISNE, FLAHAULT fut accueilli au laboratoire de Van TIEGHEM, alors Maître de Conférences à l'École Normale Supérieure.

Les six années de séjour à Paris furent une ère de travail enthousiaste et l'époque des amitiés solides. Chez Van TIEGHEM, FLAHAULT voyait très souvent BONNIER et COSTANTIN ; c'est de cette époque aussi que date sa fidèle amitié avec GUIGNARD, Emile PICARD, et Charles RICHEL, enfin la rencontre avec Ed. BORNET qui devait exercer sur lui la plus profonde influence. FLAHAULT se donna tout entier à ses études de Sciences Naturelles. Il étudiait avec une égale ardeur la Géologie, la Zoologie et la Botanique. DUCHARTRE, HÉBERT, LACAZE-DUTHIERS, LAPPARENT, MILNE-EDWARDS donnèrent leur affection à l'élève qui donnait des signes si manifestes d'une vocation de naturaliste ; ces Maîtres eussent été heureux de mettre FLAHAULT dans la voie de leurs préoccupations scientifiques, mais « la séduction des enseignements de Van TIEGHEM, les admirables dernières leçons de CLAUDE BERNARD sur les phénomènes de la vie commune aux animaux et aux plantes, les doctrines de PASTEUR vulgarisées par les leçons de DUCLAUX firent pencher la balance du côté de la Biologie végétale » (1).

La Licence ès Sciences naturelles fut acquise le 23 novembre 1876 avec la mention très bien en toutes les matières.

- Les notes de Travaux pratiques prises par FLAHAULT pendant son temps d'Étudiant révèlent déjà chez lui le souci constant d'une objectivité rigoureuse, une curiosité de *voir*, une méthode de travail.
- FLAHAULT ne se contentait pas d'être un élève studieux ; il cherchait à répondre aux questions que la curiosité scientifique posait à son esprit. Il étudiait en soumettant tout à la critique. Aucune formule n'était acceptée d'avance, fût-elle exprimée par le Maître le plus éminent.

•(1) *Loc. cit.*

•

Chez les Dicotylédones et chez les Gymnospermes, le fonctionnement de la coiffe dépend toujours de celui de l'épiderme ou de l'écorce. Toutes ces variations signalées dans les grands embranchements végétaux dépendent de l'âge, du volume, et de l'activité de la racine au moment de l'observation, qui masquent souvent la simplicité du plan primitif, d'où l'origine de la confusion régnant à l'époque où FLAHAULT entreprit de tirer la question au clair.

Tels sont les principaux résultats de cette thèse de Doctorat. Ils sont classiques ; rien ne pouvait prévaloir contre des *faits* bien observés. Mais, nous retiendrons particulièrement que l'auteur de ce mémoire d'anatomie pure pose et aborde les problèmes avec un esprit de biologiste. La racine, entre ses mains, n'est pas un massif cellulaire qui se cloisonne suivant des plans géométriques ; elle est un *organe vivant* qui a une structure adaptée à sa fonction et équilibrée avec la physiologie du moment. Enfin, la découverte de ce plan primitif souvent masqué rappelle irrésistiblement à l'esprit le nom de Gustave CHAUVEAUD. La mise en évidence des rapports entre le développement plus ou moins accéléré de l'embryon et la structure de sa racine ne semble-t-elle pas précéder de beaucoup les beaux travaux de ce savant ? Si FLAHAULT était resté anatomiste, où son esprit original n'eût-il pas conduit cette science ? La maîtrise se dessine déjà ici.

Charles FLAHAULT fut reçu Docteur le 2 août 1878. Il avait été nommé, le 1^{er} mai de la même année, Préparateur de DUCHARTRE à la Faculté des Sciences de Paris.

La Thèse du jeune Docteur parut dans les *Annales des Sciences Nationales* (6^e série Bot. VII, 1878). Une seule note l'avait précédée ; elle a comme titre « Sur le talon de la tigelle de quelques Dicotylédones » et a paru, en 1877, dans le *Bulletin de la Société botanique de France* (1).

L'amitié de ses Maîtres de la Sorbonne et du Muséum que FLAHAULT s'était attirée par son travail et ses dons de cœur ne cessa de veiller sur lui et d'exercer sa bienveillante action.

Nous avons déjà dit que Ch. FLAHAULT était accueilli dans l'intimité de la famille Van TIEGHEM ; il fut introduit, à peu près à la

(1) Ch. F. était membre de cette Société depuis le 23 mars de cette année. Il y avait été admis sur la présentation de DUCHARTRE et de Van TIEGHEM et habitait alors 12, rue de Taranne.

même époque, auprès de Paul DUBOIS, qui désirait faire donner quelques notions de Sciences Naturelles à ses fils, les petits-enfants de TAINÉ, en particulier à Louis, le futur Président de la Commission des Réparations. Les DUBOIS recevaient tout ce que Paris possédait d'esprits distingués à la fin du siècle dernier. FLAHAULT vit chez eux CLAUDE BERNARD, BERTHELOT, PASTEUR, RENAN, SAINT-SAËNS. ...Il a conservé de ces réunions de haute intellectualité un souvenir inoubliable.

Nommé Préparateur, FLAHAULT était en selle. Sa jeune personnalité s'était déjà affirmée; ses camarades pressentaient son avenir. Quant à lui, il pensait simplement qu'il était dans une situation favorable pour travailler.

Après la guerre de 1870, la France qui avait si cruellement ressenti la solitude pendant son conflit avec la Prusse ne négligeait rien pour se rapprocher des autres pays. Elle favorisait, entre autres, l'amitié avec les pays Scandinaves qui avaient pour nous beaucoup de sympathie. Désireux de se former, FLAHAULT saisit avec reconnaissance l'occasion qui lui était offerte de poursuivre des études dans ces pays, et en particulier en Suède, où la Botanique était très en honneur.

Il avait probablement déjà lu la *Géographie botanique raisonnée* d'A. de CANDOLLE et l'œuvre magistrale de GRISEBACH qui venait d'être traduite de l'allemand par TCHIHATCHEF. De telles études devaient lui plaire.

CH. FLAHAULT séjourna pour la première fois en Suède et en Norvège d'août à novembre 1878, chargé de mission du Ministère de l'Instruction publique. Ce premier voyage, accompli en compagnie de G. BONNIER, fut suivi, l'année suivante, d'un second, seul. Conquis par les pays du Nord, FLAHAULT y séjournera plus tard encore quatre fois, en 1890, 1907, 1909 et 1913.

Il y trouva des amis fidèles et entretenait les plus cordiales relations avec les savants suédois, norvégiens et danois. Les liens étaient particulièrement affectueux avec Th. FRIES, HILDEBRANDSON, WARMING. Plus tard FLAHAULT sera Docteur *honoris causa* de l'Université d'Upsal, membre de la Société Royale des Sciences d'Upsal, membre d'honneur de la « Nation Vaermland » et titulaire d'Ordres suédois et danois. Ces distinctions expriment l'estime des savants scandinaves et danois pour leur collègue français.

Les publications qui datent de 1879-1880 se rapportent toutes aux observations faites dans les pays du Nord. L'anatomie végétale est abandonnée et ne figurera plus jamais dans les travaux originaux. FLAHAULT s'occupe de problèmes biologiques et se donne surtout à l'étude des modifications des végétaux suivant les conditions physiques du milieu.

Depuis longtemps les botanistes avaient remarqué que les feuilles de nos espèces françaises sont, lorsqu'elles croissent sous les hautes latitudes, en moyenne, plus grandes et d'un vert plus foncé ; les fleurs y ont aussi plus d'éclat. FLAHAULT et BONNIER montrèrent que l'accroissement exceptionnel des feuilles sous les latitudes boréales est dû à la durée de l'éclairement pendant la saison utile et que la coloration des fleurs est corrélative de l'assimilation actuelle ou de la présence de réserves nutritives. Contrôlés par des expériences de laboratoire à Upsal et à Paris ces résultats furent solidement établis.

Pour résoudre ces problèmes, FLAHAULT mit à la base une observation attentive des faits de la Nature. Il a été conduit à dresser des listes de plantes, remarqua bientôt celles qui disparaissaient au cours de ses déplacements et les espèces nouvelles qui les remplaçaient. C'était déjà faire œuvre de phytogéographe. FLAHAULT se passionnait à suivre ces faits ; il s'appliqua donc à trouver les conditions de vie des plantes, ainsi que les raisons de leur présence ou absence. Mais, malgré l'intérêt qu'il reconnut à ces questions, la principale préoccupation scientifique de son esprit resta néanmoins d'ordre physiologique. Le futur phytogéographe n'est pas affranchi de ses premières amours et fait remarquer dans ses conclusions que les observations de géographie botanique peuvent guider utilement dans des recherches d'anatomie et de physiologie.

Mais le vent souffle où il veut. FLAHAULT a beau considérer ses observations phytogéographiques comme auxiliaires de son principal objet d'étude, la graine est semée dans son esprit, et elle lève au cours des randonnées solitaires à travers la Laponie. Revenant à Paris après ses deux premiers séjours en Scandinavie, FLAHAULT n'est plus anatomiste ni physiologiste, mais phytogéographe. Le dernier mémoire publié sur ses observations en Laponie est significatif (Nouvelle obs. sur les modifications des végétaux suivant les conditions physiques du milieu, *Ann. Sc. Nat., 6^e série, Bot. IV, 1879*).

Dans ces pages FLAHAULT consacre, il est vrai, encore une large part à l'analyse détaillée des modifications dans la forme des feuilles, de l'intensité du coloris des fleurs sous l'influence de la latitude ; il s'y attarde avec d'autant plus de soins que RAMOND avait contesté, à tort, la justesse de ses conclusions. Mais, les passages les plus intéressants du mémoire en question ont trait à la géographie botanique, secondaire dans l'esprit de FLAHAULT, au moment de la rédaction de ce travail.

Nous voyons le jeune savant insister sur la nécessité de faire intervenir, dans les listes de plantes, les indications sur l'altitude, les conditions climatiques et du sol, enfin « *la fréquence relative des espèces en mettant en tête les espèces qui forment le fond de la végétation, puis en deuxième ligne, les espèces abondantes, enfin, celles qui sont rares ou exceptionnelles, car on ne saurait déduire rien de sérieux sur la distribution des végétaux, si l'on avait seulement à sa disposition des listes de plantes récoltées* ». Il met en évidence, l'importance qu'a le *type d'organisation* — nous dirions aujourd'hui le *type biologique* — pour caractériser une végétation. Il se rend nettement compte comment il sera possible de résoudre beaucoup de problèmes phytogéographiques et en donne quelques exemples. C'est l'occasion pour lui d'affirmer, dès 1880, que « la Géographie botanique ne réalisera de réels progrès qu'autant qu'on l'abordera avec des méthodes rigoureuses, en repoussant toutes les hypothèses jusqu'à ce qu'on ait soumis à l'observation et même aux épreuves décisives de l'expérience, les phénomènes dont l'explication doit être le plus souvent vérifiable actuellement ».

Les résultats rapportés de Scandinavie ont été complétés en 1880 par un voyage d'études en Angleterre.

Revenant à Paris pour la durée de l'année scolaire où les fonctions auprès de DUCHARTRE étaient reprises, FLAHAULT rédigeait ses observations et se consacrait aux étudiants. Son Maître lui laissait beaucoup d'initiative et l'encouragea à multiplier, en faveur des élèves de licence, les conférences et les démonstrations. FLAHAULT prit des dispositions pour donner à cet enseignement le plus de vie possible. Le Muséum où DECAISNE, BOIS et DAVEAU lui restaient très attachés lui fournissait beaucoup de matériaux. Le complément était rapporté des excursions aux environs de Paris. Les démonstrations portaient sur l'ensemble du règne végétal.

FLAHAULT cultivait, dans ce but, beaucoup de Mucoracées inconnues sur lesquelles Van TIEGHEM a publié d'importants travaux. Il découvrit des Agaricinées de petite taille, objets d'études très favorables.

FLAHAULT attachait autant d'importance à la clarté de l'enseignement qu'à son objet. On pouvait le voir de temps à autre à la Comédie Française ; il s'y rendait pour prendre des leçons de diction. Les dimanches étaient consacrés à herboriser aux environs de Paris ou à visiter les Pauvres, conformément à l'enseignement et à l'exemple de sa chère Mère.

Le 21 avril 1880 FLAHAULT est nommé Répétiteur à l'École des Hautes Etudes et, le 13 avril de l'année suivante, Chargé de Cours de Botanique à la Faculté des Sciences de Montpellier. Le 1^{er} juin 1883, ayant l'âge requis, il est nommé Professeur titulaire.

* * *

C'est le moment de parler d'Edouard BORNET dont FLAHAULT admirait l'œuvre et appréciait le grand dévouement et la haute probité scientifique. La rencontre des deux savants eut lieu en 1879, à la veille du départ de FLAHAULT pour la Laponie. FLAHAULT désirait être documenté sur la flore des mers arctiques. Ce fut l'origine d'une intimité ardente très affectueuse et d'une collaboration rare.

Aucun homme n'a exercé sur FLAHAULT une influence aussi profonde que BORNET. L'illustre algologue aimait en FLAHAULT la jeunesse animée de l'idéal le plus élevé ; il se retrouvait dans son disciple. Pour FLAHAULT, BORNET était le savant et l'homme le plus digne d'admiration et d'imitation. « Nous étions faits pour nous comprendre » devait-il écrire plus tard. En relisant la vie de BORNET nous trouvons bien des traces de l'empreinte durable que le Maître a laissée chez son disciple : FLAHAULT était le fils spirituel de BORNET.

Pendant douze années les deux hommes ont été unis par la collaboration la plus étroite ; l'affection mutuelle la plus complète les a animés toute leur vie.

La mort de BORNET en 1910 fut pour FLAHAULT un chagrin immense.

Ch. FLAHAULT avait accepté avec joie l'offre d'aller à Montpellier. « Vous allez vivre dans un pays exceptionnel ; si actif que vous soyez, vous laisserez beaucoup à faire à ceux qui viendront après vous » lui avait dit MILNE-EDWARDS en guise de viatique. FLAHAULT en était convaincu. Il connaissait d'ailleurs la richesse de la nature méditerranéenne et n'aimait pas Paris où ses goûts des champs étaient trop difficiles à satisfaire.

En arrivant à Montpellier Ch. FLAHAULT prit la suite d'une lignée de très illustres Maîtres. La mémoire d'Auguste PYRAME DE CANDOLLE était encore toute fraîche. J.-E. PLANCHON, que FLAHAULT venait remplacer, avait été le successeur de DUNAL, collaborateur du grand DE CANDOLLE.

C'était une haute marque de confiance de continuer tant de gloires scientifiques ; FLAHAULT le savait ; il s'efforcera d'en être digne. Pierre qui roule n'amassant pas mousse, il prit possession de la chaire avec la ferme intention d'y finir sa carrière et de se donner entièrement à sa double tâche de professeur et de savant. FLAHAULT est resté ainsi à la tête de la chaire de Botanique pendant 47 ans. Il a refusé, à plusieurs reprises, d'aller comme Professeur au Muséum à Paris. Des offres de nomination, en Suède, eurent le même sort. L'or ne l'attirait pas, malgré ses charges de famille. Un deuil cruel était venu l'éprouver à nouveau. Un de ses frères mourait en laissant 7 enfants en bas âge. FLAHAULT décida de prendre la place du père et de se consacrer à l'éducation de ses neveux et nièces.

Ch. FLAHAULT avait la vocation de l'enseignement ; il l'avait au point le plus élevé. L'enseignement pour lui était un apostolat. « On n'est pas professeur sans être apôtre », disait-il.

Les leçons faites avec un tel idéal étaient admirables de clarté, d'ordre et de tenue. Elles étaient préparées avec beaucoup de soin à l'aide de nombreuses notes que FLAHAULT prenait sur toutes choses, et exposées dans une langue volontairement simple, mais choisie (1). L'enseignement du Maître comprenait annuellement 65 à 70 leçons d'amphithéâtre et autant de conférences familières. Le cours proprement dit était consacré à étudier des problèmes complexes, à éclaircir les questions obscures, à mettre au point les problèmes d'actualité. Les Etudiants recevaient les connaissances complémentaires

(1) Beaucoup de ses cours étaient polycopiés ; il les distribuait périodiquement. FLAHAULT était presque toujours son propre polycopiste.

dans des conférences familières et au cours des herborisations, pendant les séances de Travaux pratiques et au P.C.N. FLAHAULT tenait beaucoup à ce que ses élèves suivissent ce dernier enseignement. Nourris d'un tel programme les Etudiants en Botanique de la Faculté des Sciences de Montpellier possédaient à la fin de leurs études de Licence, des connaissances sérieuses qui leur permettaient d'aborder n'importe quel ordre de Travaux plus personnels. Le souci d'assurer à ses élèves une culture botanique générale était très grand chez FLAHAULT; il condamnait les spécialisations prématurées qui conduisaient fatalement à « coquillarder ».

Faire connaître la vérité après l'avoir découverte et inspirer le désir de la découvrir, chercher à former des hommes capables d'observer la nature et de conquérir la certitude, enseigner à chercher, telles étaient les hautes visées de FLAHAULT, professeur.

L'application de tels principes nécessitait une communauté de vie et d'aspiration complète entre le Maître et les élèves. FLAHAULT s'y appliquait de toute son âme. Sa vie s'écoulait au milieu des Etudiants, dont beaucoup furent soutenus par ses propres ressources, et au laboratoire, ouvert à tous les travailleurs. De 1881 à 1898, année de son mariage, FLAHAULT a consacré sans exception à ses élèves tous les jours de l'année scolaire. En se donnant ainsi, il s'imposait de grandes servitudes, mais il écartait de lui les paresseux et les gens pressés d'arriver. Un noyau solide de disciples fervents qui avaient le cœur haut et une volonté tenace de se former, se groupait autour du Maître; c'était la récompense du dévouement. Nous relevons dans cette pléiade d'élèves fidèles les noms de F. JADIN, P. VIALA, SAUVAGEAU, DECROCK, GALAVIELLE, J. HUBER, l'abbé Hy, COURCHET, F. GAY, HERAIL, etc... Ces hommes étaient vraiment ses fils. La pauvreté des laboratoires ne les rebutait pas. On travailla, avant que l'Institut de Botanique fût créé, dans un grenier et, quand la température était trop chaude, dans un vestibule, sous un arbre. Tous ceux qui ont connu ces temps héroïques en ont conservé le plus vif souvenir. FLAHAULT aimait l'enseignement dans la nature, dans le Jardin des Plantes de Montpellier, si riche ou au cours des herborisations. Il portait toujours sa boîte carrée blanche et un piolet qu'il avait raccourci le jour où il sut qu'il ne ferait plus de grandes randonnées en montagne. Une musette ne manquait jamais; elle contenait carnet de notes, crayon, et le

petit pain indispensable pour 10 ou 16 h. L'herborisation commençait avant qu'on eût quitté la ville ; c'était un enchantement. Les explications du Maître alternaient avec des questions posées à brûle pourpoint et des récits de vieux souvenirs. Il n'aimait pas le travail morose et essayait d'infuser à tous sa joie de l'amour, de la nature, de la lumière et de la vie.

Le cadre habituel des herborisations du mardi après-midi était la garrigue de Grabels, les bois de Fontfroide, de la Valette et de la Colombière, Montferrier, Palavas, les bords de la Mosson, Castelnaud, mais il s'étendait en rapport avec l'ardeur des disciples et des moyens dont on pouvait disposer. Les plus intrépides de ses élèves n'hésitèrent pas à gravir, avec leur Maître, les Pyrénées et les hautes Cévennes en plein hiver pour étudier sur place comment la végétation des sommets se comporte à l'égard de la neige, du vent et des basses températures. Profitant de circonstances propices, FLAHAULT put conduire ses élèves en Catalogne, en Corse, aux Baléares, en Algérie, au Maroc, en Suède et au Danemark, dans les Alpes bava-roises et autrichiennes et en Suisse où il multipliait les explorations avec la collaboration de son excellent ami C. SCHRÖTER.

Le cercle de ses auditeurs grandit avec sa Maîtrise ; les élèves de l'École Nationale des Eaux et Forêts, de l'École forestière des Barres, les Etudiants des Universités Suisses, les Géographes des Universités françaises sollicitèrent l'honneur d'être guidés dans la région méditerranéenne française. FLAHAULT ne comptait jamais sa peine.

« On ne devient naturaliste que dans la Nature ». Désirant rester au contact de la nature et voulant que ses élèves se plient à cette discipline essentielle, FLAHAULT n'a jamais consenti à écrire un traité, malgré les sollicitations pressantes. Il déclina, pour rester auprès de ses élèves, une invitation de TREUB de se rendre à Java ; c'est aussi en vain que FARLOW le tenta de se rendre aux Etats-Unis.

Il estimait qu'il devait aux hommes qui lui demandaient d'être formés la science actuelle, non celle de la veille et avait la conviction que les échanges continuels d'idées entre Maître et élèves étaient plus profitables que les livres à la formation des savants. Cependant il rédigea, en faveur de ses élèves, un grand nombre de mises au point, entre autre la remarquable *Paléobotanique dans ses rapports avec la*

végétation actuelle, des articles bibliographiques, notices nécrologiques de savants dont il importait de connaître l'œuvre. Il avait traduit intégralement, pour eux, la Géographie botanique de SCHIMPER.

Bien que vivant au milieu de ses Etudiants et les connaissant à fond, FLAHAULT se gardait de jamais proposer à un travailleur un sujet déterminé de recherches. Estimant que l'on ne fait bien que ce que l'on aime et se défiant de son jugement, il attachait une grande importance à ce que ses disciples fissent eux-mêmes le choix de l'objet de leurs travaux personnels et mettait chacun en face de ses aptitudes et de ses responsabilités. La liberté en cette matière lui paraissait la meilleure garantie de succès. Les travaux les plus variés sont ainsi sortis de Montpellier (1).

FLAHAULT ne perdait pas de vue qu'un bon Maître de l'Enseignement supérieur ne doit pas oublier que son devoir est non seulement d'enseigner, mais aussi de se livrer à des recherches personnelles et d'apporter sa part à la découverte de la vérité.

La Chaire de Montpellier n'ayant pas de laboratoire organisé, lorsque FLAHAULT en fut nommé titulaire, il ne pouvait plus être question de continuer les recherches de physiologie et d'écologie végétales suggérées par les voyages en Scandinavie. L'amitié d'Edouard BORNET l'invita à se consacrer aux Algues, encore très peu connues. Tout en se livrant à ces travaux, FLAHAULT s'appliqua à l'étude de la flore et de la végétation méditerranéenne, dont la connaissance est indispensable à quiconque occupe la chaire de Montpellier.

Les lettres échangées pendant cette période entre BORNET et FLAHAULT sont charmantes d'affection et de confiance mutuelle. BORNET appelait son disciple « mon cher Coll » ou « mon cher Collabo ». FLAHAULT n'avait pas de secrets pour son Maître ; il lui confiait tous ses projets, tout ce que le Midi lui suggérait en matière de recherches à entreprendre « Ne vous dispersez pas sur trop de cheses » recommandait le bon Maître. Mais, comme nous comprenons FLAHAULT !

Les recherches sur les Algues étaient l'objet de nombreux

(1) Parmi les thèses qui ont été faites sous la direction de FLAHAULT citons celles de HERAIL, F. GAY, COURCHET, HY, VIALA, J. HUBER, F. JADIN, L. VIDAL, DECROCK, M. HARDY, PAVILLARD, J. LAGARDE, C. SAUVAGEAU, E. HESS, A. THELLUNG, MAX SORRE, BRAUN-BLANQUET, et Herman KNOGHE.

déplacements, principalement pendant les grandes vacances. A Cosne, FLAHAULT était l'hôte de BORNET ; il y fut pris, une année, d'une fièvre typhoïde très grave ; BORNET qui se doublait d'un excellent médecin sauva son disciple.

FLAHAULT travaillait aussi souvent au Laboratoire Arago de Banyuls, à la Villa Thuret, à Cette où, pendant 2 ans, il avait établi un petit laboratoire personnel, à Wimereux avec GIARD, à Roscoff, où il était accueilli par LACAZE-DUTHIERS, enfin au Croisic. BORNET et FLAHAULT avaient installé, dans cette dernière localité, un laboratoire à leurs frais ; c'était le rendez-vous d'un groupe de travailleurs acharnés : GOMONT, C. SAUVAGEAU, L. GUIGNARD, L. GALAVIELLE, l'abbé HY, P. A. DANGEARD, HENNEGUY, J. HUBER...

Le premier travail algologique publié par FLAHAULT a trait aux Algues de la presqu'île d'Antibes (1883). La même année, nous apprenons la découverte de la troisième espèce d'Algues brunes vivant en dehors des eaux marines : *Lithoderma fontanum*.

Au moment où FLAHAULT se décida pour les Algues, BORNET ayant achevé la rédaction des *Notes et Etudes*, publiées sous sa signature et celle de THURET, jugea nécessaire de reprendre les Nostocacées. Ce groupe d'Algues inférieures était alors très mal connu et sa systématique des plus embrouillée ; il fallait en reprendre l'étude à la base. BORNET associa FLAHAULT à cette œuvre difficile ; elle aboutit à la *Révision des Nostocacées hétérocystées* qui fut publiée par fascicules dans les *Ann. des Sc. Nat.*, de 1886 à 1888. Cet ouvrage fondamental mit la clarté dans le chaos inextricable d'une synonymie obscure ; désormais, les groupes, genre, espèces étaient bien définis et logiquement subordonnés. Les auteurs y précisèrent, de plus, les conditions de vie et d'habitat et la distribution géographique de chaque espèce ; c'est la marque de FLAHAULT.

La Monographie de BORNET et FLAHAULT est devenue immédiatement classique ; elle est encore l'ouvrage fondamental pour quiconque s'occupe des Nostocacées.

A la suite de ce travail, BORNET et FLAHAULT approfondirent l'étude des microorganismes vivant dans la coquille abandonnée des Mollusques ; ils découvrirent une série d'Algues, de Champignons et de Lichens qu'on ne trouve que dans le test des Mollusques. Après avoir résolu un problème technique permettant l'étude de ces organismes d'accès difficile, les deux savants réussirent à saisir

tous les détails de l'histoire de ces êtres et à en faire connaître l'organisation complète. Ces végétaux, perçant les coquilles et agissant chimiquement, rendent les coquilles plus friables et favorisent leur réduction en poussières. Ils jouent ainsi un rôle important dans l'économie de la Nature. Zoologistes et paléontologistes, ont pu, grâce à ces travaux retrouver ces organismes jusque dans les coquilles de l'ère primaire.

La création de l'Institut botanique (1889-1890) marque une étape importante dans la vie et la carrière de Ch. FLAHAULT; elle concrétisa l'idée de *foyer* scientifique que FLAHAULT eut, depuis son arrivée, l'ambition de réaliser à Montpellier.

Par bonheur, les concours, sans lesquels les meilleures intentions restent stériles, ne manquaient pas. Il n'y a pas de villes en France où l'Université jouit d'un prestige aussi grand auprès des populations qu'à Montpellier. Une histoire glorieuse a, depuis des siècles, scellé l'union entre les Facultés et Montpellier; l'Université, ici, a toujours occupé une grande place dans la vie sociale. L'activité botanique était intense à Montpellier. Le jardin botanique et les collections comptent parmi les plus riches qui soient, la situation géographique est très favorable à la vie d'un grand centre. Les meilleures chances étaient encore les hommes: un grand administrateur, L. LIARD, directeur de l'Enseignement Supérieur, et un apôtre, FLAHAULT.

L. LIARD avait une haute conception de sa charge. La défaite de 1870 ne l'avait pas abattu; il comprit le rôle que les Universités pourraient jouer dans l'ardente volonté de relèvement national que la France manifestait dans tous les domaines. Le grand Recteur était l'homme de la situation. Arrivant inopinément dans les villes universitaires il savait y distinguer et encourager ceux qui étaient à la hauteur de leur mission. Ses inspections n'étaient pas toujours très administratives, mais elles gagnaient en efficacité. C'est au cours d'un de ces voyages soudains que FLAHAULT fut mis au courant, par M. LIARD lui-même, du projet de créer en France quatre ou cinq grands centres de travail largement outillés devant grouper la jeunesse studieuse en de grands foyers de Science et d'esprit national et l'y élever librement dans le culte de la vérité et de la patrie.

Au point de vue de l'enseignement qui serait donné, L. LIARD pensait que l'idéal vers lequel il fallait tendre était l'absence de tout

programme officiel. Il était nécessaire de dégager l'Enseignement supérieur des contraintes et des limites étroites, il fallait lui donner des ailes et du souffle, des horizons illimités. FLAHAULT était préparé à des idées aussi élevées et à un idéal aussi généreux. Son tempérament le portait vers une réalisation de cet ordre.

Il se mit à l'œuvre. Nul doute que durant cette période les souvenirs de Suède où l'Université sait si bien encourager les efforts des Etudiants laborieux et la vie intellectuelle, étaient alors bien vivants devant ses yeux, et qu'il en était inspiré.

L'amitié que L. LIARD ne cessa de témoigner toute sa vie à Ch. FLAHAULT prouva que celui-ci avait pleinement répondu à l'esprit du Recteur.

L'Institut botanique de Montpellier fut inauguré le 14 avril 1890 et reçut, le 24 mai de la même année, la visite du Président de la République. Il est devenu, sous l'impulsion de FLAHAULT, le rendez-vous des Maîtres de toutes les nations d'Europe et d'Amérique. Parmi les collaborateurs remarquables qui entouraient FLAHAULT, se trouvait Jules DAVEAU qui assumait pendant 40 ans, avec une compétence et un dévouement admirables, la lourde tâche de la Direction des Herbiers. Pour animer ce puissant centre de travail, FLAHAULT fonda le *Comité de patronage des Etudiants étrangers* qui a orienté de nombreux jeunes gens étrangers vers la France, et « l'Union Franklin » dont l'élément essentiel était un restaurant fonctionnant sous la direction de FLAHAULT. On y servait une nourriture saine et abondante pour une somme minime. Le Maître y prenait lui-même pension et c'était le plus enjoué des camarades (1).

La carrière de Ch. FLAHAULT algologue se termine par la création de l'Institut botanique. Le savant va concentrer maintenant son activité sur la région méditerranéenne. Il n'abandonna cependant pas complètement les Algues, publia des mises au point au profit de ses élèves, fit étudier des problèmes algologiques autour de lui... Mais à partir de 1893 nous voyons disparaître les Algues de la liste de ses publications ; la géographie botanique prend définitivement la place des anciennes préoccupations.

A vrai dire FLAHAULT était phytogéographe dès 1879, et son

(1) J'ai trouvé ces détails dans les pages touchantes que M. DECROCK a consacrées à son Maître. (*Le Chêne*, 1935, pp. 23-37.)

activité d'Algologue, malgré la maîtrise avec laquelle elle s'est affirmée, n'a été qu'un intermède masquant le phytogéographe, mais sans l'étouffer. La vue d'ensemble que nous avons de l'œuvre du savant le prouve. Nous avons déjà mis en évidence le côté géographique de ses premières publications. Dès sa nomination à Montpellier, et tout en se livrant à l'étude des Algues, FLAHAULT parcourut le pays avec ardeur, d'abord sous la conduite de BARRANDON et de J.-E. PLANCHON puis seul ; enfin, tous les travaux algologiques ont une teinte géographique.

Dès 1883, ses connaissances sur la flore méditerranéenne étaient assez vastes pour lui permettre de diriger, la même année, sur les côtes de Provence, la Session extraordinaire annuelle de la *Société botanique de France*.

Trois ans après, la Société botanique s'adressait de nouveau à lui pour être guidée dans les Causses cévenols et les gorges du Tarn.

Au cours de cette session (1886) FLAHAULT présenta, avec Durand, sa note sur *Les limites de la région méditerranéenne en France*. Ainsi, cinq ans après son arrivée à Montpellier, FLAHAULT avait une vision assez claire du pays pour en tracer les grands traits phytogéographiques.

Cette publication, à nos yeux, a une importance particulière. FLAHAULT y reprend vraiment le fil de ses réflexions scandinaves.

FLAHAULT pensait que s'il était possible de caractériser la végétation méditerranéenne à l'aide des principes qu'il avait découverts au cours de ses pérégrinations scandinaves (rapports quantitatifs entre plantes vivaces et plantes annuelles, rapports de types biologiques avec le milieu, rapports quantitatifs entre les diverses espèces du peuplement...) il aurait une base certaine pour suivre les limites géographiques de la région méditerranéenne et le moyen de les fixer sur une carte. Cette limite établie d'abord d'après l'observation de la végétation, pourrait être précisée, plus tard, par l'étude des conditions écologiques régnant sur ses frontières.

FLAHAULT trouva que la végétation méditerranéenne pouvait être caractérisée, en France :

1^o par l'apparition à peu près exclusive des essences forestières à feuilles persistantes.

2^o par la prédominance d'arbrisseaux vivaces à feuilles persistantes et souvent aromatiques.

3^o par le nombre considérable de plantes annuelles.

Ces trois conditions réunies distinguent la végétation méditerranéenne ; quand l'une d'elles manque, les autres disparaissent aussitôt.

FLAHAULT trouva que la culture de l'Olivier, qui était alors poussée jusqu'à ses extrêmes limites, coïncidait exactement avec l'étendue de la végétation méditerranéenne, il prit donc l'Olivier comme critère et traça ses limites qui étaient du même coup celles de la végétation méditerranéenne entière. En éliminant ainsi les faits inutiles qui entravent tout effort de synthèse, FLAHAULT pût reconnaître, à l'intérieur des territoires phytogéographiques naturels, des ensembles de moindre grandeur caractérisés, chacun, par un petit nombre d'espèces, comme chaque étage géologique l'est par un petit nombre de fossiles.

La difficulté était de trouver les espèces caractéristiques dans un manteau végétal aussi dégradé que celui des pays méditerranéens. FLAHAULT montra que la difficulté n'était pas insurmontable. La méthode imaginée permettait de synthétiser les faits phytogéographiques, et de les exprimer, pour la première fois, cartographiquement. FLAHAULT réussit ainsi dans une entreprise qu'avait tenté en vain, 80 ans auparavant, son plus illustre prédécesseur, A.-P. DE CANDOLLE ; c'était le point de départ d'une activité très brillante et très féconde.

Les faits phytogéographiques exprimés cartographiquement s'ordonnèrent avec une telle clarté que FLAHAULT s'aperçut rapidement du parti qu'il était possible d'en tirer. D'abord, le procédé était général ; ce qui était possible pour la région méditerranéenne l'était pour des portions plus vastes du globe. Il en fournit lui-même la démonstration en l'appliquant à la France entière, et présenta la carte établie à la réunion des Sociétés botaniques de France et de Suisse en 1894. De plus, un tel document, complété par certaines indications, acquérait, au point de vue agricole et économique, une importance de premier ordre. Il était, enfin, possible d'orienter l'agriculture, la sylviculture dans une voie rationnelle, vraiment scientifique.

Les Sociétés botaniques de France et de Suisse en comprirent toute la portée. Elles émirent le vœu que cette carte fut établie pour toute la France au 200.000^e. Présenté au Ministre par MM. L.

GUIGNARD et VIALA, FLAHAULT reçut des promesses et même une lettre d'encouragement, mais ce furent l'Angleterre, la Suisse, l'Allemagne et l'Autriche qui forgèrent, pour leur pays, l'instrument dont FLAHAULT voulait offrir la primeur à sa patrie. Le Ministère de l'Agriculture n'avait compris ni l'intérêt de la carte, ni l'énorme labeur de 15 années de recherches de son auteur. FLAHAULT fut déçu et blessé dans son ardent patriotisme : la France ne voulait pas de son travail. La peine du moins n'était pas perdue. VIDAL DE LA BLACHE accueillit la feuille de Perpignan dans les *Annales de Géographie*, 1897. Par les difficultés que FLAHAULT y a résolues cette feuille montre, plus que les autres, le haut intérêt de semblables travaux.

Nous arrivons à 1900. FLAHAULT a 48 ans. Il est en pleine force. Son renom scientifique dépasse déjà les frontières, et l'étranger se plaît à reconnaître ses grands mérites. Dès 1892 il était élu membre de la Société Impériale des Naturalistes de Moscou. En 1895, il devint membre de l'Académie Leopoldino-Caroline des Curieux de la Nature en compagnie de son Maître Ed. BORNET. Trois années plus tard l'Académie des Sciences lui décerna le Prix Gay pour son mémoire sur « la distribution des végétaux dans le bassin méditerranéen français » dans lequel étaient étudiés, pour la première fois, les rapports de la végétation actuelle avec celle des périodes géologiques antérieures, et les causes actuelles de la distribution géographique des végétaux. Ce mémoire a servi de modèle à la magistrale *Introduction de la Flore de France* de l'abbé Coste (1901).

En 1900, FLAHAULT est proclamé vice-président du Congrès international de Botanique.

* * *

Les grandes vacances venues, Ch. FLAHAULT se rendait auprès de sa mère à Bailleul, après avoir passé un mois en explorations. Mais depuis plusieurs années, le chemin qui le conduisait dans le Nord passait par Nancy. Il s'y rendait sur l'invitation de M. GEORGEL dont il avait vu la fille chez le Recteur de Montpellier, M. GÉRARD. Dans la maison de campagne de Vandœuvre située sur l'un des coteaux qui dominent Nancy, plusieurs générations se groupaient tous les étés avec amis et parents. Là, « parmi les rires d'en-

fants et de jeunes filles » le projet le plus doux prit corps. Le 12 avril 1898, tous ses neveux et nièces étant élevés, FLAHAULT épousa Mlle Marguerite GEORGEL.

Ch. FLAHAULT avait maintenant son foyer familial. Sa femme partageait entièrement l'idéal de son mari. Elle connaissait la grandeur et les servitudes de la vie intellectuelle, car elle appartenait à une famille dont les GEBHARD, les LAVISSE, les POINCARÉ et les VIDAL DE LA BLACHE étaient les intimes. Alfred RAMBAUD était son oncle. Se dévouer au prochain était la loi de sa vie morale, comme elle était celle de Ch. FLAHAULT.

Ils étaient maintenant deux pour suivre un idéal commun. Marié, FLAHAULT vit grandir le rayon de son dévouement charitable. Personne ne saura jamais le nombre de misères qui ont été soulagées, combien de cœurs et de courages brisés ont été relevés dans ce foyer si fort par la vertu et par le cœur.

Deux filles sont nées de cette union.

*
*
*

Les études phytogéographiques devaient nécessairement conduire l'illustre botaniste à prêter son attention aux problèmes de l'économie biologique du sol et de la conservation des montagnes.

FLAHAULT racontait en plaisantant qu'il était devenu forestier grâce aux gendarmes. C'était en 1911.

« J'entendais parler de restauration des montagnes, et j'entendais crier haro sur le mouton ; mais porté par instinct à ne pas me contenter des opinions d'autrui, je poursuivais une enquête discrète et personnelle sur les transhumants et leurs bergers. Je venais justement de découvrir ce jour-là qu'un troupeau de 3.000 moutons était gardé par trois enfants de 7 à 12 ans ; les bergers, gardiens responsables du troupeau, s'étaient loués dans la vallée pour faucher les foins. J'ai dans mes carnets noté pas mal de faits plus édifiants encore sur les rois de la montagne ».

« L'orage m'avait atteint. Sous un ciel d'ardoise je dévalais vers le bourg le plus prochain. La grêle et la foudre faisaient rage quand j'arrivais au pont de Montvert. Je fus tout étonné d'apercevoir le pont gardé par Pandore et son Chef « Vite, vite me criait-on, ou vous ne passerez plus ». Je passai, le pont ne fut pas emporté ce

jour-là. Cependant, en dépit de l'orage, je demeurai ; je vis l'horrible lave arriver et monter menaçante ; je vis l'affreuse boue engloutir et briser les arbres des berges. Sous mes pieds je sentis les formidables coups de bélier des blocs battant les rives avec le bruit sourd de l'artillerie de siège. A l'aube du lendemain, à la place des carrés de légumes et des prairies que j'avais entrevus un instant seulement, s'étendait une grève de pierres et de limon ; le pays se lamentait. Quant à moi, revenu bien vite à la montagne, j'observai les ravages des torrents et, dans les prés dont les foins étaient hachés, les plaies béantes ouvertes de la veille. »

« Quelques jours après, l'amitié et la sollicitude d'Eug. DURAND mit entre mes mains le livre de SURELL et le Traité du Reboisement de DEMONTZEY. J'étudiai ces Maîtres ; j'avais trouvé mon chemin de Damas ». (*Extrait d'une conférence faite à la Soc. forestière de Franche-Comté*, 1911).

FLAHAULT prit position, dans ces graves questions, dans une note intitulée « La question forestière » publiée dans le *Bull. Soc. Botanique de France* (Session de Collioure) (1891). Il mit en évidence l'action destructrice coupable de l'homme. Il ne cessa de revenir sur ce sujet et avec d'autant plus d'insistance que les preuves et les éléments de démonstrations s'accumulaient et découvraient l'immense plaie dont souffrait la France méditerranéenne.

Un tiers du territoire de nos sept départements limitrophes de la Méditerranée est livré à la vaine pâture ; 60% du pays de Nice est abandonné. Cette côte d'azur, si riche, si opulente « n'est qu'un rideau d'affreuses misères ». L'homme brûle et mutilé la forêt. Il massacre les oiseaux, inlassables destructeurs d'insectes nuisibles. Enfin, pour faire de l'herbe, il met le feu à la lande. Peu à peu le sol se découvre, nu, stérile ; l'érosion a bonne prise sur cette terre livrée sans défense. Le rocher squelettique apparaît.

Les hommes eux-mêmes abandonnent leurs foyers qui tombent en ruine. Quelques pâtres faméliques hantent encore ces lieux ; ils achèvent de créer le désert.

C'est surtout en montagne que les dangers de la dégradation forestière sont graves et ont les plus funestes conséquences au point de vue économique et social. Le mal reconnu, FLAHAULT ne négligeait rien pour lutter contre la ruine de nos montagnes ; il en devint le défenseur passionné. Il trouva dans le plus éminent des forestiers,

Georges FABRE, la réplique de son haut idéal et la collaboration nécessaire. FLAHAULT saisit avec bonheur, en 1902, l'offre de M. le Directeur général des Eaux et Forêts de créer, au voisinage de l'Observatoire de l'Aigoual, un jardin botanique qui devait documenter par les essais qui y seraient faits les possibilités forestières de ce massif montagneux. Avec la collaboration de G. FABRE, FLAHAULT s'efforça de répondre de son mieux à la tâche qui lui était confiée. Il créa non seulement le jardin demandé, mais plusieurs centres d'observations échelonnés aux altitudes de 200 à 1.530 m. Il édifia, à ses frais personnels à l'Hort de Dieu, un laboratoire en faveur des Etudiants, des Professeurs de l'Université et de tous ceux qui désiraient se livrer aux recherches biologiques. Pendant les vacances l'animation était grande dans la petite maison accolée contre les rochers de la croupe de l'Aigoual. L'hospitalité la plus cordiale y était assurée à tous. FLAHAULT et sa femme y donnaient tout. Combien d'étudiants de conditions modestes, combien de chercheurs, ne leur doivent pas des jours heureux à l'Aigoual.

FLAHAULT mène maintenant de front ses travaux phytogéographiques, son enseignement et son programme d'apostolat forestier. Il a toutes ses forces ; les années de 1900 à 1914 sont la grande époque de sa vie ; il appartient à ce quatuor de grands maîtres de la Botanique du début de ce siècle qui comprend en dehors de lui, WARMING, ENGLER et SCHRÖTER. Montpellier est un des premiers centres botaniques du monde.

La grande place que Montpellier avait conquise et les grands besoins de documentation de tous ceux qui travaillaient à l'Institut botanique avaient mis en évidence les difficultés énormes de réunir les éléments de bibliographie épars dans une infinité de journaux et de revues et la nécessité d'y remédier.

Beaucoup de botanistes soucieux de l'actualité scientifique pour eux-mêmes et pour la formation de leurs élèves, partageaient les mêmes préoccupations.

A un appel venu de Munich et de Java, un comité préparatoire fut constitué, en 1901, à Genève, entre botanistes désireux d'entrer en communication à ce sujet. *L'Association internationale des Botanistes* y fut créée et FLAHAULT en devint rédacteur principal pour la France. Ce groupement se donnait comme principale mission de faire paraître une *Revue bibliographique* complète, rédigée en

français, en anglais, en allemand, au gré des rédacteurs. FLAHAULT avait obtenu que la langue française fut employée par beaucoup de rédacteurs étrangers, grâce à la collaboration de savants formés à Montpellier, grâce aussi à ce que FLAHAULT avait accepté de corriger les épreuves des analyses rédigées en français. Le français était ainsi devenu la langue des botanistes belges, hollandais, espagnols, portugais, danois, italiens, russes, suisses, brésiliens et japonais.

Dès le 1^{er} janvier 1902 l'organe de l'*Association internationale des Botanistes* parut à Leyde ; il a paru régulièrement, à raison d'un numéro de 32 pages au moins, chaque semaine jusqu'à la guerre de 1914.

En 1907, l'Association créa sous le nom de *Progressus Rei botanicae* un périodique uniquement consacré à la mise au point des questions d'ensemble. En qualité de vice-président (1905-1908), puis de Président de l'Association (1908-1913), FLAHAULT a pris une part active à la création de ce périodique ; il publia dans le 1^{er} fascicule un mémoire sur *les progrès de la géographie botanique depuis 1884, son état actuel et ses problèmes*.

Sous l'influence de FLAHAULT, l'*Association internationale* a fondé, en outre, à Utrecht, un laboratoire de culture pour Champignons qu'il était difficile de se procurer, lorsqu'on en avait besoin. Le personnel de ce laboratoire était rémunéré par l'Association.

Les circonstances imposèrent encore une autre tâche.

Les nombreux travaux phytogéographiques qui se succédaient n'avaient pas tardé à montrer que le moment était venu de mettre de l'ordre dans la nomenclature et la subordination des groupes phytogéographiques sous peine de ne plus s'entendre. Le III^e Congrès de Géographie réuni à Berlin en 1899 avait émis un vœu dans ce sens et nommé une commission de 9 membres, tous allemands. Informé aussitôt, FLAHAULT estima que c'était aux botanistes à prendre la question en main ; connaissant le problème à fond, il rédigea et fit imprimer un rapport très étudié et détaillé qu'il communiqua aux principaux phytogéographes de l'Europe et d'Amérique, ainsi qu'aux initiateurs du vœu de Berlin. Toutes les réponses furent favorables à une consultation internationale ; en conséquence, Ch. FLAHAULT pria le 1^{er} Congrès international de Botanique de Paris (1900) de mettre à l'ordre du jour l'examen de son *projet de nomenclature phytogéographique*.

Ce *projet* se basait sur la considération de deux ordres de faits : le substratum géographique et topographique de la végétation, unités *géographiques et topographiques*, et la végétation elle-même groupée de diverses manières suivant les conditions de milieu, formant les *unités biologiques*. Il comportait, de plus, les bases d'une entente sur l'établissement, en plusieurs langues, d'une synonymie internationale des groupes géographiques et biologiques de divers ordres qui puisse être proposée aux botanistes voyageurs, aux explorateurs et aux géographes, la fixation de règles relatives à la cartographie géographique et une terminologie applicable aux périodes de développement des flores.

Dans ces discussions FLAHAULT s'efforça de ménager les susceptibilités de chacun, en donnant aux échanges de vue le caractère d'une recherche en commun des moyens les plus rationnels d'exprimer des faits phytogéographiques. L'accord complet a récompensé ces efforts. FLAHAULT fut désigné par un vote unanime, comme rapporteur de ces importants problèmes au Congrès international de 1905.

Afin de faciliter sa tâche, FLAHAULT pria les botanistes de publier, pour chaque pays, des collections de *paysages types* accompagnés d'indications précises sur la végétation, la flore, le climat, le milieu. Son vœu fut écouté... mais en Allemagne, où dès 1913 l'éditeur G. FISCHER, de Jena, mit en vente les premiers fascicules des *Végétationsbilder* dont la publication dure encore de nos jours.

Le II^e Congrès international de Botanique eut lieu à Vienne en 1905. Au cours de ces assises les questions les plus importantes engageant l'avenir de la Botanique devaient être débattues. En plus de la codification des termes phytogéographiques, le congrès portait à l'ordre du jour l'épineuse question des règles de la nomenclature botanique. FLAHAULT, par un vote unanime, fut prié de présider les débats.

C. SCHRÖTER, dans une note récente consacrée à la mémoire de son cher ami, s'est plu à rappeler tout particulièrement cet épisode de la vie de FLAHAULT. Il loua la grande maîtrise avec laquelle FLAHAULT sut éviter les écueils dans une assemblée aux tendances si multiples et non exempte de préoccupations politiques et conduire les débats au succès escompté. Celui-ci, en effet, était complet. Ad. ENGLER, en prenant la parole à la fin du Congrès reporta, approuvé de tous, le mérite des résultats atteints sur l'éminent

Président du Congrès. FLAHAULT fut chargé avec la collaboration de J. BRIQUET, rapporteur général, et des autres membres du Bureau de donner une forme définitive à l'énoncé des règles admises.

La discussion des règles de la nomenclature botanique avait pris tout le temps prévu pour le Congrès ; il n'était pas possible d'étudier le projet de nomenclature phytogéographique mis à l'ordre du jour. Il fut convenu d'un commun accord d'inscrire cette question en première ligne du programme du Congrès de 1910 qui se tiendrait à Bruxelles. SCHRÖTER fut adjoint à FLAHAULT pour la présentation des propositions.

Ce célèbre rapport a été rédigé à Zurich en 1909 et discuté à Bruxelles l'année suivante, mais l'absence de plusieurs phytogéographes notoires ne permit pas de donner au débat l'ampleur désirée. Certains points furent réservés pour le prochain Congrès (1915). La guerre a mis fin à ces préoccupations.

Ch. FLAHAULT était maintenant connu du monde entier. Dès 1904, l'Académie des Sciences l'accueillit comme Correspondant. Beaucoup de Sociétés savantes le proclamèrent membre d'honneur ou membre correspondant : Société Royale des Sciences d'Upsal, Société Linnéenne de Londres, Société botanique d'Edimbourg, Soc. Zoologique et botanique de Vienne, Soc. botaniques allemande, suisse, américaine, etc. Il est membre d'honneur du X^e Congrès international de Géographie de Rome (1911), docteur *honoris causa* des Universités de Genève et d'Upsal, Lauréat du Touring Club de France...

En 1902 il reçut la Croix de la Légion d'honneur et, en 1909, la rosette. Le Ministre de l'Instruction publique le nomma, en 1914, Membre du Comité consultatif de l'Enseignement supérieur. Enfin, en 1918, FLAHAULT fut élu membre non résident de l'Académie des Sciences. Sur la fin de sa vie, en 1929, l'Académie d'Agriculture l'accueillit également.

* * *

La guerre de 1914 surprit FLAHAULT à l'Aigoual dans la méditation des grands problèmes phytogéographiques et dans ses travaux de reboisement. Il se mit immédiatement au service de la Patrie. Ce grand savant, jusqu'à la fin des vacances, remplaça le

facteur mobilisé, afin que les familles ne soient pas trop longtemps privées de nouvelles de ceux qui étaient accourus aux frontières. Il parcourut ainsi, âgé de 62 ans, tous les jours et par tous les temps, en pleine montagne, 40 à 50 km.

Revenu à Montpellier il reprit son enseignement en se multipliant. Il ajoutait à ses fonctions de professeur de Botanique de la Faculté des Sciences celles de Professeur de Sciences Naturelles et de Géographie au Lycée de Montpellier. Dès les premières arrivées de blessés, il battit hôpitaux et ambulances de Montpellier à la recherche des hommes du Nord et de l'Est qu'il voulait tous recevoir chez lui. Tous les dimanches la maison FLAHAULT était le foyer de ces malheureux...

Ce n'était pas assez ; FLAHAULT fut le créateur et l'animateur d'œuvres charitables qui ont rendu les plus grands services au pays. Les deux plus importantes organisations qu'il avait provoquées étaient l'*Œuvre méridionale des Orphelins de guerre* et celle de la *Rééducation des Mutilés*.

L'œuvre méridionale des Orphelins de guerre ! Il la créa avec le concours généreux de personnes de tous rangs, de tous partis, de toutes croyances, animées, comme lui, du désir de venir en aide à la catégorie la plus intéressante des victimes du terrible conflit mondial. Il parcourut, aidé par sa femme et ses filles, les villes et communes de l'Hérault à la recherche des foyers éprouvés par les deuils de la guerre ; on se renseigne sur la situation de chacun, on établit les états civils, on court au plus pressé... Bientôt chaque orphelin de guerre avait sa fiche portant toutes les indications nécessaires. Aucune misère n'échappait à la surveillance de FLAHAULT et de ses dévoués collaborateurs. Les autorités municipales, les communes, les familles prirent rapidement l'habitude de communiquer régulièrement, à l'œuvre, tous les renseignements qui leur parvenaient. Et, lorsqu'en 1917, deux ans après la fondation de l'Œuvre méridionale des Orphelins de guerre, la loi créa l'Office des Pupilles de la Nation, l'œuvre montpelliéraine animée par FLAHAULT fut prise comme modèle et était la première organisation de ce genre à fonctionner normalement en France. Cette consécration officielle n'était pas nécessaire à la satisfaction de FLAHAULT, mais elle mit en évidence la tâche admirable qui avait été accomplie sans bruit, mais avec beaucoup de cœur.

Les mutilés de guerre partageaient, avec les Orphelins, la sollicitude de FLAHAULT. L'émotion que sa mort a provoqué chez tous ceux qui l'ont connu à l'œuvre de rééducation des blessés est le témoignage le plus sensible du souvenir qu'il y a laissé. Les anciens élèves de l'École des blessés de la XVI^e région nous l'ont dit en termes touchants : « Nous avons été ses élèves et ses enfants. Ses « étudiants étaient partis pour le front et nous venions d'en revenir « avec nos blessures : à bras ouverts il nous accueillait de tout son « cœur de patriote et de Flamand dont la petite patrie occupée « devait garder, isolée jusqu'à la mort, sa vieille mère vaillante « comme lui ».

« Il nous enseignait la botanique, la géographie, la vie universelle, la vie morale. Ses leçons, causeries familières au cours « desquelles il nous tutoyait tous, étaient d'une simplicité rayonnante. Il nous disait « *Je suis fier d'être instituteur, fier de vous avoir comme élèves* ». Il faisait passer en nous son enthousiasme « pour la beauté de la Nature : un Iris, entre ses mains et sous sa « voix, devenait un monde enchanté dont nous admirions la structure « délicate et complexe. « *Regarde bien, disait-il en passant la fleur ! touche cette brosse de poils. Quand l'abeille passera là-dessus « attirée par la belle couleur bleue, elle se chargera de pollen qu'elle « ira porter ensuite où il faudra. Tout est combiné, tout est prévu* ». « Certainement au cours de ces entretiens, beaucoup de mes camarades ont vu s'éclairer le monde ».

« M. FLAHAULT ne se bornait pas à des leçons régulières ; il « parlait la nuit venue, après le repas du soir, aux deux cents blessés « des ateliers. Ceux qui le voyaient arriver presque courant, plein « de sourires et de saluts amicaux répétés, faisaient circuler de « proche en proche : c'est le caporal qui parle ce soir. Alors, du fond « des dortoirs du vieil hôpital général, tous les plus fatigués accouraient vers la salle de récréation emplies déjà d'auditeurs. »

« Il nous emmenait aussi à tour de rôle chez lui ou l'excellente « Mme FLAHAULT multipliait plats et couverts avec un sourire « maternel et, à table, servait infatigablement les blessés du bras, « les manchots, les sans-mains : que de pauvres gars du Nord ont « retrouvé ainsi l'atmosphère de la famille qui leur manquait, « chantant leur « P'tit Quinquin » avec des larmes, pour sourire « ensuite à notre « A la Font de Nîmes ». C'était chez Flahault la « plus étroite union du Nord et du Midi ».

« Le plus touchant c'est qu'il arrêta en nous toute expression de gratitude disant : *« C'est vous qui me faites du bien. Aux heures où je sens la grande tristesse m'envahir, je viens au milieu de vous et votre gaieté et votre foi en la victoire me rendent le courage »*.

« Aussi comme nous l'aimions. Il s'était baissé jusqu'à nous en nous contant ses débuts et comment il avait été, à vingt ans, caporal de chasseurs à pieds. Depuis, entre nous, nous le nommions, avec une blague attendrie : le Caporal. A lui nous disions simplement M. FLAHAULT, car il ne voulait pas d'autre titre. Mais, quand nous pensions à lui dans le fond de notre cœur, c'était comme à un père vénéré qui savait avoir pour les blessés des bontés de grand papa ».

La guerre a cruellement décimé la famille FLAHAULT. Le 2 février 1915 mourut à Bailleul, victime des privations de la guerre, la vieille mère âgée de 95 ans qu'il aimait tendrement. Quatre neveux furent tués à l'ennemi.

FLAHAULT faillit ne pas voir la victoire ; en 1916 ayant pris froid il tomba très gravement malade. Les médecins le crurent perdu. Par un sursaut d'énergie il retrouva sa magnifique santé et toute son activité.

N'ayant jamais douté de la victoire, FLAHAULT la fêta dans une joie indicible au milieu de ses chers mutilés. Il était récompensé de toutes ses peines et avait conscience d'avoir bien tenu son serment du 2 septembre 1870. La France s'était retrouvée ; il avait une foi complète dans ses destinées. Le retour de l'Alsace à la mère-patrie comblait tous ses vœux de Français.

Le gouvernement, en le chargeant, en 1918, de réorganiser la Faculté des Sciences de Strasbourg, lui fit un honneur auquel il était profondément sensible. Nul n'était plus digne de parfaire la victoire des armes par la conquête des cœurs. Les photographies que nous avons de lui à cette époque nous le montrent rayonnant et pleinement heureux. « Comme je me sentais vivre » nous disait-il en racontant ses souvenirs d'Alsace. Aucune mission ne lui a donné plus de joie ; aucune n'a reçu, dans l'exécution, autant de dévouement et autant de cœur.

Strasbourg avait reconnu en lui la France de son idéal et répondait avec élan à la simplicité charmante irrésistible du Maître. Il y avait entre eux l'union la plus parfaite et la plus grande confiance.

A Strasbourg, comme, jadis, à Vienne, FLAHAULT s'est révélé l'ambassadeur idéal de la France intellectuelle. Les souvenirs qu'il a laissés, et les regrets de son départ, en 1919, y sont encore très vifs.

L'ivresse de la victoire passée, les blessures profondes apparurent. La vie scientifique française et internationale était désorganisée. Trop de jeunes intelligences manquaient à l'appel ; ce furent encore les hommes de la génération de FLAHAULT qui entreprirent de réparer les maux et de stimuler la coordination intellectuelle sans laquelle il n'y a pas de science. FLAHAULT est là sur la brèche ; il accepte de faire partie de la Conférence interalliée des Académies et assume la charge la plus lourde de la grande tâche entreprise, celle du *Secrétariat général de l'Union internationale des Sciences biologiques* qui groupait les pays alliés et neutres du monde entier.

L'Allemagne et ses satellites ne faisaient pas partie de ce groupement, mais la question de leur admission devait se poser tôt ou tard. Lorsqu'elle ne put plus être éludée FLAHAULT demanda d'être relevé de ses fonctions : il ne voulait reprendre aucun contact avec les hommes dont rien ne pouvait racheter le crime de 1914.

A partir de ce jour, FLAHAULT se donna exclusivement, en dehors de son enseignement, à la restauration forestière méditerranéenne. Les dernières leçons du Maître étaient aussi belles, aussi documentées, aussi soigneusement étudiées que celles des jeunes années. Les étudiants étaient très fidèles et l'amphithéâtre comptait toujours, de plus, des dilettantes distingués et des botanistes ou anciens élèves de FLAHAULT de passage à Montpellier. Assister à sa leçon de Botanique c'était pour ces derniers revivre de vieux et chers souvenirs communs ; c'était se retremper dans une atmosphère sereine et bienfaisante. Nul témoignage d'affection ne touchait davantage le vieux Maître que cette fidélité.

FLAHAULT quitta l'Université de Montpellier en 1927 après l'avoir honorée et servie pendant 47 ans. Le soir, où il quitta définitivement l'Institut botanique qu'il avait fondé, son successeur lui serra la main sur le pas de la porte. Ce fut tout... Ce jour-là FLAHAULT fut sublime.

Arrivé à la maison, il trouva des télégrammes affectueux de Suède ; on ne l'avait pas oublié là bas.

Dans sa grande sagesse, FLAHAULT avait prévu l'épreuve de la retraite, fatale à tant de personnes habituées à une vie active. Ce

changement important dans sa vie se réduisit, grâce aux précautions qu'il avait prises, à un simple changement de lieu. Il trouva asile à la *Maison des Agriculteurs* de Montpellier. Son activité, l'ordre de ses travaux, ne changeaient pas.

Le travail sauva FLAHAULT en 1927. Le départ de l'Université était un grand chagrin. La mort subite de sa femme, un mois après sa mise à la retraite, fut un coup terrible. Nous redoutions les conséquences d'épreuves aussi douloureuses. « Crois, ma bonne chérie, que le courage ne me manque pas. Ma foi chrétienne est absolue, et j'ai vu trop de malheurs pour n'être pas ferme devant eux » ; c'est en ces termes qu'il rassurait sa fille. Il a tenu sa promesse.

Pendant huit ans encore FLAHAULT sera sur la brèche. La géographie botanique l'avait conduit à la forêt et celle-ci à la géographie humaine. Il a consacré ces dernières années à mettre sa grande expérience au service de la cause forestière. Le centre de travail était la *Commission départementale de Reboisement* qu'il avait créée et dont il était l'âme. L'œuvre réalisée là est énorme ; FLAHAULT ne négligeait aucun moyen pour aboutir, mais, suivant son habitude, donnait surtout l'exemple et payait de sa personne. Malgré son grand âge on le trouvait toujours prêt à partir pour les chantiers et les forêts. Il parcourut ainsi tout le midi méditerranéen et surtout les départements limitrophes de l'Hérault, multipliant conférences, appels, visites aux autorités en faveur de la restauration des terres incultes par le reboisement.

On le voyait dans toutes les fêtes de l'arbre, qu'il aimait à présider. Il créa et surveilla des pépinières, surveilla des travaux de reboisement, donnait lui-même le coup de talon autour du jeune arbre fraîchement planté et multipliait, sur le terrain, ses instructions en insistant sur les *petits* moyens dont dépend le succès d'un reboisement. Il rédigeait à l'intention de tous ceux qui voulaient planter des arbres des instructions pratiques et, pour les botanistes et forestiers, des mémoires (études phytogéographiques et monographies d'essences forestières) qui sont des modèles du genre.

Il prenait toujours des notes suivant l'habitude prise dans sa jeunesse. La pensée de la mort, qui ne le quittait pas, ne l'empêchait pas de marcher vers l'avenir et de le préparer. La résurrection forestière dans le Midi est l'œuvre de FLAHAULT.

Cette prodigieuse activité venait d'un homme qui était au tra-

vail dès 4 ou 5 heures du matin et avait toujours le temps d'écouter ses nombreux visiteurs. On le trouvait toujours souriant et prêt à rendre service ; personne ne faisait appel à lui en vain.

On ne l'entendait jamais dire « Si j'étais jeune » ; n'avait-il pas toujours ardemment rempli sa vie et toujours fait de son mieux tout ce qu'il pouvait et devait ? « Chaque chose à son temps ; j'ai été jeune « à mon tour, soyez heureux comme je l'ai été ; travaillez toujours, « c'est la joie de la vie » telle était la sereine philosophie de ce vieillard.

Peu à peu FLAHAULT se détachait des choses du monde, les « quittant avant qu'elles ne vous quittent » ; son travail seul importait : mourir sur la brèche. Sa vie qui avait toujours été très simple, devenait, après la mort de sa femme, celle d'un ascète.

Il travaillait à la maison des Agriculteurs de 7 h. du matin à midi et de 13 h. 1/2 à 18 heures. Le soir il lisait et analysait — la plume à la main — les mémoires qu'on lui adressait ; aucun envoi n'était sans réponse.

La tendance actuelle de l'étude des groupements végétaux n'avait pas ses encouragements ; il estimait qu'elle était trop éloignée de la Nature. Cette attitude n'était pas prise *a priori*, car il était très respectueux de l'originalité des intelligences ; elle était le résultat d'études sur le terrain et de réflexions. FLAHAULT condamnait aussi la terminologie « barbare » qui caractérise tant de mémoires modernes ; être clair, pouvoir être compris du plus humble, avait toujours été l'une de ses ambitions. Il observait en silence et avec le calme le plus élevé toute cette « agitation phytosociologique » qui faisait tant de bruit. Une seule fois, à l'occasion de la publication d'un mémoire sur les Causses, il décida de dire à ce sujet, sa pensée dans une note imprimée ; c'est une des rares notes de FLAHAULT publiée dans un style de polémique. Écrite à l'âge de 79 ans (1931) elle montre un esprit singulièrement vif et clair.

Le Maître se plaisait aussi à explorer les vieux auteurs qu'à son avis on ne lisait pas assez. Bernard PALISSY, DUHAMEL DU MONCEAU, OLIVIER DE SERRES avaient sa faveur. Il retrouvait aussi avec plaisir ses auteurs classiques et les lisait dans le texte ; TACITE était presque un compagnon de chevet. Parmi les écrivains français, FLAHAULT cultivait, à la fin de sa vie, LA BRUYÈRE et BOILEAU. Il notait dans un cahier les paroles qu'il jugeait les plus dignes d'être retenues. Enfin, personne n'était plus fidèle à l'oraison et à la méditation religieuses.

Le jardinage était son délassement physique favori. On pouvait souvent, le voir à l'Institut botanique ou à la maison, un râteau ou une pioche à la main ; c'était FLAHAULT en récréation coupant ses longues journées de travail qui commençaient avant l'aube.

La retraite n'avait pas éteint le Professeur. Dans sa passion de se donner et de faire du bien de toutes ses forces, FLAHAULT sollicite l'honneur d'enseigner l'horticulture aux élèves de l'établissement de Dom Bosco. Ses auditeurs, maintenant, ne sont plus des amphithéâtres brillants et les savants les plus célèbres ; c'est une troupe d'enfants trouvés, abandonnés, ramassés, reniés, la clientèle habituelle de Dom Bosco. Ce sont ces petits déshérités qui ont eu la faveur d'entendre les dernières leçons du Maître.

Ch. FLAHAULT avait une santé de fer. Chose curieuse, cet homme petit et maigre, avait, dans sa jeunesse, la conviction qu'il mourrait jeune.

A 75 ans FLAHAULT pouvait encore faire des courses de 40 km. par jour. A 80 ans il sentit une diminution de la mobilité de la jambe gauche ; il s'en rendit compte le jour où, pour éviter les passants dans sa marche rapide, il ne pouvait plus sauter des trottoirs, ainsi qu'il en avait l'habitude. Cette usure du cartilage du fémur était la seule infirmité dont il eût à souffrir. « On est puni par où on a pêché », disait-il en riant. Son esprit et son intelligence, par contre, sont restés intacts jusqu'au bout ; il en était heureux et l'attribuait à la vie très ordonnée et disciplinée qu'il s'était imposée dès sa jeunesse. Conservant ainsi un esprit si jeune, FLAHAULT jouissait pleinement de la famille qui s'accroissait autour de lui. Il n'y avait pas de meilleur Grand-père, car il savait l'art si rare de se faire aimer des petits sans les gêner.

Et tous ceux qui ont vécu dans l'intimité du grand savant, savaient quel charmant vieillard il était ! Content de tout, toujours gai, il recherchait toutes les occasions pour faire plaisir, il n'y avait pas de compagnon plus agréable. Il s'était élevé si haut dans le domaine moral, que toute sa personne en rayonnait ; sa présence au foyer était pour ses enfants la joie la plus élevée. Il n'y était pas seulement le Chef de famille vénéré, il était *le père*, il était *l'ami* au sens le plus idéalement complet et beau des mots...

FLAHAULT ne pouvait pas mourir par une lente décroissance de ses fonctions vitales. Un tel homme ne pouvait nous quitter qu'abattu brutalement. Gêné dans la marche il prit froid le soir du

19 janvier en attendant le tramway qui devait le reconduire à la maison. Une congestion pulmonaire se déclara. Il est mort le dimanche 3 février, à 18 h. 45, entouré de ses filles, de ses neveux et de quelques amis intimes dont ses fidèles médecins, les D^{rs} GALAVIELLE et MARISSAL. Un dossier sur les Cyprès était sur sa table de travail et prêt à être élaboré en mémoire. L'élection d'A. GUILLIERMOND à l'Académie des Sciences a été sa dernière joie scientifique.

Pendant toute la durée de sa maladie, malgré de grandes souffrances, FLAHAULT montra une énergie et une sérénité admirables. Il se savait en paix avec Dieu et les hommes. La mort ne l'a pas surpris ; il y pensait toujours ; il était prêt depuis toujours.

Il se savait perdu, mais par une intuition extraordinaire connaissait nettement ses forces de résistance. Un jour, il prit sa montre et la donna à sa fille, en lui disant : « prends là, je n'en ai plus besoin ». A cette heure-là, FLAHAULT *savait* que le moment décisif approchait. Il dicta ses dernières volontés et demanda à revoir quelques amis.

Sa fin a été si belle et inspirait une telle élévation d'âme que ceux qui ont assisté à ses derniers moments n'ont pas pu pleurer : le Maître, en mourant, venait de donner sa suprême leçon.

Il avait exprimé le désir formel d'être enseveli comme un pauvre. Néanmoins l'Université et tout Montpellier ont voulu rendre un suprême hommage à l'illustre savant et l'accompagner à sa dernière demeure.

Après la levée du corps l'immense cortège conduit par l'Université se rendit au Jardin des Plantes au fond duquel s'élève l'Institut botanique que FLAHAULT avait créé. Les célèbres établissements reçurent une dernière fois la visite du Maître. Arrivé devant le bâtiment central de l'Institut botanique, le cortège s'arrêta quelques instants.

Cette minute de silence et de recueillement pendant laquelle tant de souvenirs passèrent dans le cœur des assistants fut poignante. Elle était l'hommage le plus émouvant qu'on pût rendre au grand mort.

Mgr BRUNHES, Evêque de Montpellier, avait tenu à présider les cérémonies religieuses.

Une foule dense faisait la haie. Son recueillement et son attitude émue témoignèrent qu'une grande âme venait de quitter le monde.

Rabat, le 14 avril 1935.

TRAVAUX ET PUBLICATIONS

1877. — 1. Sur le talon de la tigelle de quelques Dicotylédones. (*Bull. Soc. bot. France*, XXIV, 1877.)
2. Sur les rapports de la radicule avec la tigelle dans l'embryon des Phanérogames. (*Bull. Soc. bot. France*, XXIV, 1877.)
1878. — 3. Recherches sur l'accroissement terminal de la racine chez les Phanérogames. (*Ann. Sc. natur.*, 6^e Sér., Bot., VII, av. 8 pl., 1878.) — Thèse Doctorat Sc. natur., Paris.
4. Observations sur les modifications des végétaux suivant les conditions physiques du milieu. (*Ann. Sc. natur.*, 6^e Sér., Bot., VII, p. 93-125, 1878.) — En collaboration avec M. G. BONNIER.
5. Sur les variations qui se produisent avec la latitude dans une même espèce végétale. (*Bull. Soc. bot. France*, XXV, 1878.) — En collaboration avec M. G. BONNIER.
1879. — 6. Sur la distribution des végétaux dans la partie moyenne de la presqu'île scandinave. (*Bull. Soc. bot. France*, XXVI, 1879.) — En collaboration avec M. G. BONNIER.
7. Observations sur la flore cryptogamique de la Scandinavie. (*Bull. Soc. bot. France*, XXVI, 1879.) — En collaboration avec M. G. BONNIER.
8. Sur la présence de la matière verte dans les organes actuellement soustraits à l'influence de la lumière. (*Bull. Soc. bot. France*, XXVI, 1879.)
9. Sur la formation des matières colorantes dans les végétaux. (*Bull. Soc. bot. France*, XXVI, 1879.)
10. Nouvelles observations sur la végétation des plantes arctiques. (*Bull. Soc. bot. France*, XXVI, 1879.)
11. Les phénomènes périodiques de la végétation d'après les travaux des météorologistes scandinaves. (*Annales Bur. centr. météorol.*, 1879); In-4^e av. 2 cartes.
12. Nouvelles observations sur les modifications des végétaux suivant les conditions physiques du milieu. (*Ann. Sc. natur.*, 6^e série, Bot., IX, pp. 159-207, avec 3 pl., 1879.)

1880. — 13. Sur le développement de la végétation en Suède d'après les travaux des météorologistes suédois. (*Bull. Soc. bot. France*, XXVII, 1880.)
14. Le climat de la Scandinavie dans ses rapports avec la végétation. (*Rev. Quest. scient. Bruxelles*, 1880.)
15. Botanique géographique. Quelques observations sur la méthode. (*Rev. Quest. scient., Bruxelles*, 1880.)
1881. — 16. Rapport sur une mission en Angleterre. (*Bull. Missions scient.*, 1881.)
17. Sur la distribution géographique des végétaux. (*Rev. Quest. scient. Bruxelles*, 1881.)
1883. — 18. Comptes rendus des herborisations dans la zone littorale. (Cap d'Antibes, etc.) du 12 au 16 mai 1883. (*Bull. Soc. bot. France*, XXX, 1883.)
19. Liste des Algues maritimes récoltées à Antibes par MM. BORNET et FLAHAULT. (*Bull. Soc. bot. France*, XXX, 1883.)
20. Sur quelques formes de *Nostoc*. (*Bull. Soc. bot. France*, XXX, 1883, av. 1 pl.)
1884. — 21. Sur le *Lithoderrna fontanum*, Algue phéosporée d'eau douce (*Bull. Soc. bot. France*, XXX, 1883, avec 1 pl. et *C. R. Ac. Sc., Paris*, 2 juin 1884.)
22. Notice biographique et bibliographique sur J. DUVAL-LOUVE. (*Bull. Soc. bot. France*, XXXI, 1884.)
23. Sur la détermination des Rivulaires qui forment des fleurs d'eau. (*Bull. Soc. bot. France*, XXX, 1884.) — En collaboration avec Ed. BORNET.
1885. — 24. Récolte et préparation des Algues en voyage; (br. in-8°, Montpellier, 1885, 12 p.)
25. Note sur le genre *Aulosira*. (*Bull. Soc. bot. France*, XXXII, 1885, av. 1 pl.) — En collaboration avec Ed. BORNET.
1886. — 26. Rapport sur l'herborisation faite les 21 et 22 juin sur le Causse Méjean et dans les gorges du Tarn. (*Bull. Soc. bot. France*, XXXIII, 1886.)
27. Liste des Algues récoltées aux environs de Millau pendant la session de 1886. (*Bull. Soc. bot. France*, XXXIII, 1886.)
28. Liste méthodique des plantes Phanérogames et cryptogames vasculaires récoltées pendant la session de Millau en juin 1886. (*Bull. Soc. bot. France*, XXXIII, 1886.) — En collaboration avec A. BARRANDON.
29. Les limites de la Région méditerranéenne en France. (*Bull. Soc. bot. France*, XXXIII, 1886, av. carte.) — En collaboration avec M. Eug. DURAND.

1887. — 30. Etude botanique sur les Oléacées et l'Olivier. Introduction à « L'Olivier » par MM. L. DEGRULLY et P. VIALA; Montpellier, 1887; 40 p. gr. in-8° avec carte.
1888. — 31. But de la Botanique systématique. (*Gazette hebdom. Sc. médic.*, Montpellier, 1888).
32. Herborisations algologiques d'automne au Croisic. (*Bull. Soc. bot. France*, XXXV, 1888.)
33. Tableau synoptique des Nostocacées filamenteuses hétérocystées. (*Mém. Soc. Sc. natur. et mathém. de Cherbourg*, XXXV et XXXVI, 1885-1888). En collaboration avec Ed. BORNET.
34. Revision des Nostocacées hétérocystées contenues dans les principaux herbiers de France. (*Ann. Sc. natur.*, 7^e Sér., Bot., III, IV, V et VII, 1886-1888.) — En collaboration avec Ed. BORNET.
35. Concordance des Algen Sachsens et Europas de L. Rabenhorst, avec la Revision des Nostacacées hétérocystées. (*Notarisia*, III, 1888) — En collaboration avec Ed. BORNET.
36. Note sur les Nostocacées hétérocystées de la flore belge. (*Bull. Soc. R. Bot. Belgique*, XXVII, 1888.)
37. Les Nostocacées hétérocystées du Danemark et l'herbier de Lyngbye. (*Bull. Soc. bot. Copenhague*, 1888.)
38. Notice nécrologique et bibliographique sur H. LORET. (*Bull. Soc. bot. France*, XXXV, 1888, p. 418.)
39. Note sur deux nouveaux genres d'Algues perforantes. (*Jour. de Botan.*, 16 mai 1888.) — En collaboration avec Ed. BORNET.
1889. — 40. Sur quelques plantes vivant dans le test calcaire des Mollusques. (*Bull. Soc. bot. France*, XXXVI, 1889, avec 7 pl.) — En collaboration avec Ed. BORNET.
41. Des moyens de résoudre les difficultés de la symétrie de structure des végétaux. (*Gazette hebdom. des Sc. médic.*, Montpellier, 1889.)
42. Les herborisations aux environs de Montpellier. (*Journ. de Botan.*, 1888 et 1889.)
43. Note sur les phénomènes périodiques de la végétation dans leurs rapports avec la météorologie. (*Annales Soc. Hort. et Hist. natur. de l'Hérault*, 1889.)
44. L'œuvre de J.-E. PLANCHON. (*Mém. Acad. Sc. et Lettres de Montpellier*, Sect. Sciences, XII, 1889); pet. in-4°, 32 p.
1890. — 45. Revue des travaux sur les Algues publiés en 1888 et 1889. (*Rev. gén. de Botanique*, II, 1890.)
46. L'Institut de Botanique (Université de Montpellier); Notice. Broch. in-8°, 57 p., 1 pl. phototypie et 7 plans; Montpellier, Firmin et Montane, 1890.

47. L'Université de Montpellier. Discours prononcé à l'occasion de l'inauguration de l'institut de Botanique le 14 avril 1890; broch. in-8°, 23 p., Montpellier, 1890.
 48. L'enseignement supérieur en Suède et en Danemark; br. pet. in-8°, 73 p., Montpellier, 1890.
 49. Rapport sur l'Histoire naturelle, sur l'enseignement des Sciences naturelles et de l'Horticulture, p. 84-106. — Exposition internationale d'Horticulture et d'Histoire naturelle à l'occasion du VI^e centenaire de l'Université de Montpellier; br. in-8°, Montpellier, 1890.
1891. — 50. Affinités des familles de plantes Angiospermes Monocotylédones et Dicotylédones Dialypétales; cours professé à Montpellier en 1890-1891; Montpellier, 1891.
51. La Question forestière. (*Bull. Soc. bot. France*, XXXVIII, 1891.)
 52. Notice nécrologique sur Paul OLIVIER. (*Bull. Soc. bot. France*, XXXVIII, 1891.)
1892. — 53. Les Algues; cours professé à Montpellier en 1891-1892; 50 feuilles pet. in-4° autographiées. Montpellier, 1892.
1893. — 54. Liste des plantes Phanérogames qui pourront être récoltées par la Société botanique de France réunie en session extraordinaire à Montpellier en mai 1893; br. in-8°, 28 p., Montpellier, 1893.
55. Notice nécrologique sur Alph. de CANDOLLE. (*Journ. de Botan.*, VII, 1893, p. 217.)
 56. Revue des travaux sur les Algues publiés de 1889 à 1892. (*Rev. gén. de Botanique*, V, 1893.)
 57. La Distribution géographique des végétaux dans un coin du Languedoc; br. in-8°, 176 p. avec carte et 5 pl., Montpellier, 1893.
 58. Les zones botaniques dans le Bas-Languedoc et les pays voisins. (*Bull. Soc. bot. France*, XI, 1893.)
 59. Lagoa Santa (Brésil). Etude de Géographie botanique par M. Eug. WARMING; traduction résumée. (*Rev. génér. Botanique*, V, 1893.)
1894. — 60. Sur la flore de la Camargue et des alluvions du Rhône. (*Bull. Soc. bot. France*, XLI, 1894, avec 3 pl.) — En collaboration avec P. COMBRES.
61. Observations sur la part qui revient au cordon littoral dans l'exhaussement actuel du delta du Rhône. (*Bull. Soc. langued. de Géogr.*, XVII, 1894, av. 2 pl.)
 62. Nathan Pringsheim; notice nécrologique. (*Rev. génér. Sciences*, V, 1894.)

63. Algues ; in Cl. Duval, Guide pratique pour les herborisations, pp. 87-110, Paris, Garnier frères, 1894.
64. Projet de carte botanique, forestière et agricole de France, (*Bull. Soc. bot. France*, XLI, 1894.)
1895. — 65. Gaston de SAPORTA ; notice biographique et bibliographique. (*Journ. de Botan.*, IX, 1895, pp. 117-129.)
66. Pierre DUCHARTRE ; notice nécrologique (*Rev. génér. Sciences*, VI, 1895).
1896. — 67. Au sujet de la carte botanique, forestière et agricole de France et des moyens de l'exécuter. (*Ann. de Géogr.* V, 1896, av. 1 pl.)
68. A propos des Etudes sur l'économie alpestre de M. F. BRIOT. (*Annales agron.*, XXII, 1896.)
69. Introduction au Catalogue raisonné de la Flore des Pyrénées-Orientales de G. GAUTIER ; 57 p. pet. in-8°, Perpignan, 1896.)
1897. — 70. Essai d'une Carte botanique et forestière de la France. (*Ann. de Géogr.*, VI, 1897, av. carte au 1.200.000.)
71. Session extraordinaire de la Société botanique de France dans la haute vallée de l'Ubaye. Notices publiées par le Comité local d'organisation. — La Flore de la vallée de Barcelonnette, pp. 17-57, av. 9 pl., Montpellier, 1897.
72. Rapport sur les herborisations de la Société botanique de France et sur quelques excursions faites hors session dans la vallée de l'Ubaye. (*Bull. Soc. bot. France*, XLIV, 1897.)
1898. — 73. La distribution géographique des végétaux dans le bassin méditerranéen français. — Mémoire présenté à l'Académie des Sciences. (Prix Gay, 1898.)
74. Notice sur la flore de la vallée de l'Ubaye ; br. in-16, 12 p. ; rédigée à la demande du Club alpin français ; 1898.
75. Johan LANGE. Notice nécrologique (*Bull. Soc. bot. France*, XLV, 1898.)
1899. — 76. La flore de la vallée supérieure du Verdon ; in Histoire d'Allos de M. l'abbé PÉLISSIER ; 22 p. pet. in-8°, 1899.
77. La Géographie des plantes avec la physiologie comme base. (*Annal. de Géogr.*, VIII, 1899.)
78. Charles NAUDIN. Notice nécrologique (*Rev. gén. sciences* 1899.)
79. Rapport sur les excursions de la Société botanique de France réunie en session extraordinaire à Hyères en mai 1899. (*Bull. Soc. bot. France*, XLVI, 1899.)
80. La naturalisation et les plantes naturalisées en France. (*Bull. Soc. bot. France*, XLVI, 1899.)

81. L'Horticulture à Hyères (*Bull. Soc. bot. France*, XLVI, 1899, et *Journ. Soc. nat. Hort. de France*, 4^e Sér., I, 1900.)
82. Henry de VILMORIN. Notice biographique (*Bull. Soc. bot. France*, XLVI, 1899.)
83. LÉON TEMPIÉ, LEUTWEIN de FELLEBERG, A. LEGRELLE. Notices nécrologiques. (*Bull. Soc. bot. France*, XLVI, 1899.)
1900. — 84. Note sur la flore du versant méridional du Ventoux. — In TESSIER, Le versant méridional du massif du Ventoux, pp. 15-23. (*Rev. Eaux et Forêts*, XXXIX, 1900.)
85. La végétation du Caucase d'après Gustav RADDE. (*Ann. de Géogr.*, IX, 1900, av. carte.)
86. Le pâturage en forêt d'après M. A. MATHEY. (*Rev. Eaux et Forêts*, XXXIX, 1900.)
87. La végétation de la Russie. Cartographie phytogéographique. (*La Géographie*, IX, 1900.)
88. Entre l'Océan et le Rio Guama d'après J. HUBER et von KRAATZ-KOSCHLAU. (*La Géographie*, IX, 1900.)
89. Projet de nomenclature phytogéographique. Rapport présenté au 1^{er} Congrès international de Botanique, Paris. (*Actes Congrès intern. Paris*, 1900.) — A project for phytogeographic Nomenclature. (*Bull. Torrey botan. Club*, New-York, 1901.)
1901. — 90. Les limites supérieures de la végétation forestière et les prairies pseudo-alpines en France. (*Rev. Eaux et Forêts*, XI, 1901, av. 1 pl.)
91. Premier essai de Nomenclature phytogéographique. (*Bull. Soc. languedoc. de Géogr.*, 1901.)
92. La flore et la végétation de la France. Introduction à la Flore descriptive et illustrée de la France de l'abbé H. COSTE; 52 p. gr. in-8° av. carte; Paris, P. Klincksieck, 1901.
93. Eléments de Géographie botanique. Conférences faites aux candidats à l'agrégation d'histoire et aux étudiants naturalistes de l'Université de Montpellier; Montpellier, 1901.
1902. — 94. *Vitis Vinifera*. Note sur l'origine de la Vigne dans le Midi de la France. In BURNAT, Flore des Alpes-Maritimes, III, pp. 297-301.
1903. — 95. Economie agricole du Portugal. (*La Géographie*, VII, 1903.)
96. La Paléobotanique dans ses rapports avec la végétation actuelle. Introduction à l'enseignement de la Botanique. Conférences faites à l'Institut de Botanique en 1902-1903. Notes recueillies par MM. J. LAGARDE et B. COLLIN. Vol. in-8°, 217 p. autographiées; P. Klincksieck, Paris, 1903.

97. Forêts et industries des bois. France et Nouvelle-Zélande. (*La Géographie*, VIII, 1903.)
1904. — 98. Rapport présenté au Conseil de l'Université au sujet des jardins botaniques de l'Aigoual. Broch. gr. in-8°, 19 p., 7 plans et planches, Montpellier, 1904.
99. Premier Congrès des Jardins alpins tenu aux Rochers de Naye, les 17-18 août 1904; br. in-8° de 35 p. Rapport, p. 19-26, 1904.
1905. — 100. Les hauts sommets et la vie végétale. (*La Montagne*, 1905, av. 2 pl.)
101. L'Aigoual et les jardins botaniques en montagne. (*Bull. Soc. d'étude des Sc. nat. de Nîmes*, XXXIII, 1905.)
102. Antoine LE GRAND. Notice biographique et bibliographique. (*Bull. Soc. bot. France*, LII, 1905.)
1906. — 103. *Zostera, Posidonia, Cymodocea*; in KIRCHNER, LOEW et SCHRÖTER, Lebensgeschichte der Blütenpflanzen Mitteleuropas, I, 33 p. in-8° av. nomb. fig.; Stuttgart, 1906.
104. Herborisations au Schachen (Alpes bavareses) et au Schneeberg de Vienne en juin 1905. (*Bull. Soc. bot. France*, LIII, 1906.)
105. Programme de la deuxième excursion géographique inter-universitaire; juin 1906. — De la Méditerranée aux Cévennes et aux Causses. Broch. in-8°, 9 p., Montpellier, 1906.
106. Rapport sur les herborisations (de la Société Botanique de France) dans la province d'Oran en avril 1906. (*Bull. Soc. bot. France*, LIII, 1906; 91 p. av. 25 pl.)
1907. — 107. Discours prononcé à la séance générale du Congrès des Sociétés savantes à Montpellier, le 6 avril 1907. Paris, Impr. nation., 1907; 16 p. in-8°.
108. Sir Thomas HANBURY. Notice nécrologique. (*Ann. Soc. Hort. et Hist. nat. de l'Hérault*, 1907.)
109. La végétation du val de Poschiavo, d'après H. BROCKMANN-JEROSCH. (*La Géographie*, XVI, 1907).
110. Deuxième Congrès des Jardins alpins tenu à Pont-de-Nant (Vaud) le 6 avril 1907; broch. in-8°, 56 p., Programme des travaux à réaliser, pp. 19-22.
111. Les Progrès de la Géographie botanique depuis 1884, son état actuel, ses problèmes. (*Progressus Rei botanicæ*, I, 1907, p. 218-292; Iéna, G. Fischer.)
1908. — 112. Notice géographique et géologique sur le Mont Aigoual. Introduction au Catalogue raisonné des Lichens de l'Aigoual, de F. MARC. (*Bull. Acad. intern. Géogr. botan.*, 1908).

113. Le Var et la Basse-Provence. Etude de Géographie botanique; 40 p. Introduction au Catalogue des Plantes vasculaires du département du Var, de MM. A. ALBERT et Em. JAHANDIEZ; vol. in-8°, P. Klincksieck, Paris.
114. Nouvelle Flore coloriée de poche des Alpes et des Pyrénées; Sér. I, 144 planches coloriées et 325 fig., 1906.— Sér. II, 140 pl. color. et 117 fig., 1908.— Sér. III, 144 pl. color. et 37 fig., 1912. P. Klincksieck, Paris.
115. Le devoir des Botanistes en matière de Géographie humaine. Conférence faite en séance générale du Congrès international de Géographie, Genève, 1908. (*Actes Congrès internat. Géographie*; Genève, 1908.)
116. Compte rendu de l'herborisation de la Société botanique de France de Bagnères-de-Bigorre au Pic du Midi; le Jardin alpin du Pic du Midi. (*Bull. Soc. bot. France*, LV, 1908.)
117. Quelques mots sur l'horticulture dans les Pyrénées centrales. (*Bull. Soc. bot. France*, LV, 1908.)
1909. — 118. Préface au « Lac de Grand-Lieu, Monographie phytogéographique », par E. GADECEAU; Nantes, 1909.
119. Au sujet de la Géographie botanique de l'Ardèche et du Vivarais. Introduction au Catalogue des Plantes vasculaires du département de l'Ardèche de J. REVOL, 1909, 19 p. in-8°.
120. A LOMBARD-DUMAS. Notice nécrologique. (*Bull. Soc. bot. France*, LVI, 1909.)
121. Programme d'une excursion du Laboratoire de Zoologie comparée de la Faculté des Sciences de Paris, des instituts de Zoologie et de Botanique de Montpellier; br. in-8°, 7 p., Montpellier, 1909.
122. Le Laboratoire de Biologie de l'Hort-de-Dieu et les Jardins botaniques de l'Aigoual. (*Bull. Assoc. franç. Avanc. Sc.*, Congrès de Lille, 1909, pp. 587-599.)
1910. — 123. Nomenclature phytogéographique. Rapports et propositions au III^e Congrès international de Botanique, Bruxelles, 1910; Broch. pet. in-4°, Zürich, 1910. — En Collaboration avec M. SCHRÖTER.
124. Cultures décoratives en montagne. (*Bull. Soc. départ. Encourag. à l'Agricult. de l'Hérault*, 1910.)
125. La conservation et la défense de nos montagnes. Mémoire présenté au concours ouvert sur ce sujet par le Touring-Club de France en 1909. Couronné le 30 juin 1910.
1911. — 126. Discussion et Compte rendu des travaux de la section de Phytogéographie. *Actes du III^e Congrès internat. de Botanique, Bruxelles, 1910*; I, pp. 117-164, Bruxelles, 1911.

- 127. Cultures potagères en montagne. (*Annales Soc. Hort. et Hist. natur. de l'Hérault*, 1911.)
- 128. Création d'un Parc national dans l'Oisans. Conférence générale au Congrès annuel de la Société forestière de Franche-Comté et Belfort à Grenoble. (*Bull. Soc. Forest. Franche-Comté et Belfort*; Besançon, 1911, 8 p. in-8°.)
- 129. Pin d'Alep. (*Pinus halepensis*). Etude phytogéographique. (*Annales Soc. Hort. et Hist. natur. de l'Hérault*, 1911.)
- 1912. — 130. Reboisements et aménagement pastoral en montagne. Conférence à l'Exposition agricole de Montpellier en 1912; fascicule Sylviculture, pp. 3-21.
- 131. Géographie méditerranéenne. Conférences sur l'Histoire de Montpellier faites à l'Université sous les auspices de l'Assoc. des Amis de l'Université, pp. 1-16. Montpellier, 1912.
- 132. Fr. MARC. Notice biographique. (*Bull. Soc. d'étude Sc. natur.*, Nîmes, XL, 1912-1913.)
- 1913. — 133. Jardins alpins. Arboretums. — Rapport présenté au Congrès forestier international, Paris, 16-20 juin 1913; 5 p. in-8°.
- 134. Discours prononcé à l'occasion de la distribution des prix des Ecoles académiques de Bailleul (Nord), le 10 août 1913; br. pet. in-8°, 14 p., Bailleul.
- 135. L'œuvre des naturalistes et le devoir social. Conférence faite à la Réunion générale annuelle de la Société d'étude des Sciences naturelles de Nîmes. (*Bull. Soc. d'étude des Sc. natur.*, Nîmes, XL, 1912-1913; 15 p. in-8°.)
- 136. Georges FABRE. Notice biographique et bibliographique av. portrait et 1 pl. (*Bull. Soc. d'étude des Sc. natur.* Nîmes, XL, 1912-1913; 20 p. in-8°.)
- 1915. — 137. La bienfaisance à Paris pendant la guerre et l'Œuvre méridionale des Orphelins de la guerre. Conférence, 24 novembre 1915; br. in-8°, Firmin et Montane.
- 1920. — 138. Première vision de l'Alsace française. Conférence; (*Le trait d'union*, déc. 1919, février 1920, Montpellier.)
- 139. L'horticulture en Alsace. (*Revue horticole*, fév. 1920, pp. 26-28.)
- 140. Allocution à l'inauguration du jardin d'essai de Bédarieux, (*Bull. Soc. départ. d'encouragement à l'Agriculture de l'Hérault*, pp. 80-85, Montpellier.)
- 141. Mon petit jardin. Conférence (*Le trait d'union*, mai 1920, Montpellier.)
- 142. Discours à la séance d'inauguration de la Soc. d'Hort., etc..., (*Ann. Soc. Hort. et Hist. Nat. de l'Hérault*, 1920 op. 8°).

143. La mise en valeur des terres pauvres par le reboisement
br. 8°, 19 p. (Tract de l'*Office agric. départ. de l'Hérault*, I, 1920.)
1921. — 144. Rapport sur le concours d'entretien, de bonne culture, de replantation et de régénération des Châtaigneraies dans le département de l'Hérault (23-25 juillet 1921); n'a pas été publié en entier.
1922. — 145. Terres incultes ou abandonnées à mettre en valeur;
br. 8°, 4 p. (Tract de l'*Office agricole départemental des Pyrénées orientales*, janv. 1922.)
146. L'eau et le rendement des plantes en matière; br. 8°, 16 p. *Congrès de l'eau de Toulouse*, Toulouse 1922.
147. Végétation du bas Languedoc, 28 p. in-12. (Montpellier, Centre d'études méditerranéennes, Chap. V. 1922.)
148. Mise en valeur des terres incultes: I, les Rivages, 8°, 19 pages. (Travail de l'*Office agricole régional du Midi*, juin 1922, Perpignan.)
1923. — 149. Congrès de l'eau, Montpellier, mai 1923. Allocution, Rapport général, Conclusion; br. 8° pp. 7-9 et 173-184, Montpellier.
150. Mise en valeur des terres incultes. III. La Montagne; br. 8° 45 p. (Tract de l'*Office agricole régional du Midi*, août 1923, Perpignan.)
151. J.-E. PLANCHON. Discours prononcé à l'occasion du Centenaire de sa naissance, Montpellier.
152. Mise en valeur des terres incultes. (Tract de l'*Office agricole départemental de l'Aude*, 1923.)
1924. — 153. Gustave THURET, Edouard BORNET, *Revue Algologique* n° 1, mars 1924, 8°, 20 p., Paris.
154. Les jardins d'agrément sur le littoral du Roussillon. (Tract de l'*Office agricole départemental des Pyrénées orientales*, 1924.)
155. Disette de bois. (Tract de l'*Office départemental agricole de l'Aude*, 1924, br. 8°, 24 p.)
156. Incendies en Forêts. (*Rev. de bot. appl.* IV, n° 32 et 33, pp. 241-277 et 317-329, Paris.)
157. Boisements des sables littoraux du département de l'Hérault. (*Ann. Soc. Hort. et Hist. nat. de l'Hérault*, LV, pp. 126-134, mai 1924.)
158. Rapport sur la mise en valeur des terres incultes dans le département de l'Aude (Tract de l'*Office agricole de l'Aude*, VI, 1924, br. 8°, 78 pages.)
159. Eug. WARMING, in *Memoriam*; br. 8°, pp. 45-56, *Bot. Tidsskrift*, 39 B, 1924, Copenhague.)
1925. — 160. La lutte contre les maladies du châtaignier, Tract de l'*Office départ. de l'Hérault*.
161. L'abbé H. COSTE, *Bull. Soc. Bot. France*, pp. 811-820.
162. Vent et neige; notes écologiques; *Festschrift Carl Schröter*, Zürich, 1925.

1926. — 163. L'Aigoual. (*Le Chêne*, 15 p. 1926.)
 164. Sauvons nos Oliviers; Tract de propagande, Montpellier.
1927. — 165. Instructions pratiques pour la plantation et les semis forestiers (5 fasc., *Comm. départ. de reboisement de l'Hérault*.)
 166. Les Chataigneraies de l'Hérault, *Comm. départ. d'Encour. à la cult. du Chataignier*, 1927.
 167. A l'occasion de l'inauguration du Parc du souvenir à Montblanc (Hérault) et de la plantation de 47 Cèdres en mémoire des enfants du pays morts pour la France. *Discours*.
 168. Conférences forestières, *L'Arbre*, pp. 117-131.
 169. Le boisement des terres incultes et des montagnes, *Bull. Soc. centrale d'Agriculture de l'Aude*, juin-avril 1927.
 170. Le reboisement des terres arides en particulier en Roussillon et en Languedoc *Le Chêne*, 16 p.
 171. Ce que rapportent les bois, *Le Chêne*, 6 p.
 172. Allocution prononcée à la distribution solennelle des prix du Lycée de garçons de Montpellier. (Montpellier, CAUSSE, GRAILLE et CASTELNAU, 1927, Montpellier.)
1928. — 173. Trois conférences forestières, *L'Arbre*, 1928.
1929. — 174. Jules DAVEAU. (*Ann. Soc. Hort. et Hist. nat. de l'Hérault*, sept., oct. 1929.)
 175. Charlemagne horticulteur. (*Ibid.* pp. 134-142.)
1930. — 176. Jules DAVEAU. (*Bull. Soc. Bot. France*, 1930, pp. 129-143.)
1931. — 177. Le jardin bouquetier au début de la Renaissance (*Ann. Soc. Hort. et Hist. Nat. de l'Hérault* XLI, 1931, pp. 37-49.)
1932. — 178. Jean-Baptiste GÈZE. (*Bull. Soc. bot. Fr.*, 1932, pp. 79-87.)
 179. Les jardins d'agrément du temps où nous vivons dans le Midi méditerranéen. (*Ann. Soc. Hort. et Hist. nat. de l'Hérault*, 1932, pp. 173-197. (à suivre).)
 • 180. A propos de la géographie botanique des Causses. (*Bull. Soc. Languedoc. Géographie*, 1932.)
- 1933. — 181. Géographie des plantes, par Henri GAUSSEN. (*Rev. Eaux et Forêts*, T. LXXI, 1933.)
 182. Boisements littoraux méditerranéens. (*L'Arbre*, nos 127-128-130, 86 pages, 1933-1934.)
1934. — 183. La vocation forestière des Grands Causses du Massif central de France. (*Bull. Soc. bot. Suisse*, 1933, T. 42, cahier 2, pp. 681-698.)

184. Vocation des terres, restauration des ruines ; les Frênes
(*Le Chêne*, pp. 4-28.)
185. Les arbres exotiques en culture forestière : Les Cèdres
(*Le Chêne*, pp. 134-174.)
1935. — 186. Les Cyprès (*mémoire en préparation*, le 19 janvier, jour
où M. FLAHAULT s'est alité pour ne plus se relever.)

* * *

Il conviendrait d'ajouter à cette liste toutes les analyses, instructions pratiques, articles de vulgarisation, allocutions, prononcés ou rédigés par FLAHAULT et qui n'ont jamais été imprimés. A ajouter aussi un important mémoire intitulé les *Causses du Midi de la France* dont je n'ai que le manuscrit ; autant que je me souviens ce travail a dû paraître dans la *Soc. Languedoc. de Géographie*, après 1930. Enfin, plusieurs publications ont certainement été omises, la liste complète se trouvant à Montpellier ; je n'ai pu la consulter.

L. E.

RECHERCHES SUR LA FORMATION DE STÉRIDES DANS LES CHLOROPLASTES DE CERTAINES CACTÉES

par Mlle J. MANUEL

I. — INTRODUCTION ET HISTORIQUE

L'existence de globules lipidiques dans les chloroplastes est depuis longtemps connue : elle a été signalée par NAEGELI [1], GODLEWSKI [2], W. SCHIMPER [3], ZIMMERMANN [4], etc. et a été l'objet de récentes études de BUSCALIONI [5] et de GUILLIERMOND [6-7].

Il y a lieu de distinguer deux cas : celui des plantes qui ne forment pas d'amidon, dans lesquelles on a décrit des globules lipidiques qui paraissent naître au contact des chloroplastes et que certains auteurs ont considérés comme des produits de la photosynthèse remplaçant l'amidon (BORODINE [8], HOLLE [9]. C'est le cas de certaines algues telles les *Vaucheria*. L'interprétation donnée à ces globules lipidiques est d'ailleurs très contestable et W. SCHIMPER et GOLDENSKI les considèrent comme une matière excrétée. D'ailleurs LI KOUÉ-TCHANG [10] a montré que les globules lipidiques des *Vaucheria* naissent dans le cytoplasme et que ce n'est que secondairement qu'ils peuvent adhérer aux chloroplastes.

Il en est tout autrement des granulations lipidiques que l'on rencontre très fréquemment dans les plastes des Phanérogames et en particulier dans les Monocotylédones et dont l'existence

ne saurait être mise en doute. GUILLIERMOND a insisté sur l'abondance de ces granulations dans les plastes des pièces florales d'*Iris germanica*. Ces granulations apparaissent en quantité considérable dans les jeunes leucoplastes à l'état de chondriocotes dont ils déterminent l'épaississement, puis disparaissent au moment où les chondriocotes élaborent de l'amidon en se transformant en chloroplastes ou leucoplastes. Elles persistent, toutefois, pendant toute la durée du développement de certaines cellules (anthère, poils des sépales). Très nombreuses dans l'épiderme des feuilles, au début du développement, elles disparaissent au moment où apparaissent les grains d'amidon, puis peuvent se reformer, mais en petite quantité, après résorption de cet amidon dont la présence n'est que transitoire. Ces granulations se reforment en grande quantité lors de la dégénérescence des feuilles et, à ce moment, les plastes apparaissent criblés de petites granulations lipidiques, puis se résorbent peu à peu et ne laissent subsister, à leur emplacement, que ces granulations. Il se produit donc une dégénérescence lipidique des plastes.

Certains physiologistes ont considéré ces granulations lipidiques des chloroplastes comme un produit de la photosynthèse. On a même envisagé la possibilité de la production d'aldéhyde glycérique par polymérisation de l'aldéhyde formique. La réduction de cet aldéhyde glycérique donnerait ensuite du glycérol, l'éthérification de cet alcool par l'acide phosphorique conduirait à la formation d'acide glycérophosphorique.

Pour BUSCALIONI, ces granulations lipidiques auraient un rôle dans les phénomènes d'oxydation : ce savant italien, se fondant sur le rôle des substances lipidiques dans les phénomènes d'oxydation, suppose que ces granulations fixeraient l'oxygène pendant la décomposition de CO_2 par la chlorophylle et serviraient ensuite indirectement à la production des pigments carotinoïdes qui se formeraient par oxydation des dérivés de la chlorophylle. BUSCALIONI attribue aussi un rôle à ces granulations lipidiques dans le processus respiratoire. Enfin, il émet l'opinion que, dans certains cas, ces granulations pourraient correspondre à un produit de l'activité chlorophyllienne lorsque les chloroplastes ne forment pas d'amidon.

Arthur MEYER [11] a exprimé une théorie toute différente : selon lui, les granulations d'apparence lipidique qui se forment dans les plastes ne seraient pas constituées par des lipides mais

correspondraient à l' α β héxylène-aldéhyde que l'on retrouve dans les produits de distillation des feuilles. Ces granulations ne se rencontreraient que dans les chloroplastes et ne se formeraient qu'à la lumière : elles seraient un produit de déchet de la photosynthèse (Auto-plastensekret). Mais les recherches de GUILLIERMOND et de MANGENOT [7] ont démontré l'inexactitude de cette opinion : ces auteurs ont établi que ces granulations se rencontrent aussi bien dans les plastes incolores que dans les plastes chlorophylliens et que d'autre part elles présentent tous les caractères morphologiques des lipides. GUILLIERMOND a montré qu'elles pouvaient être constituées par des phospholipides car elles présentent la réaction de DIETRICH. Ce savant a émis l'opinion que ces granulations résulteraient d'une séparation (démasquage) des lipides entrant dans la constitution du substratum des plastes qui se produirait, sous des influences encore inconnues, à certaines phases du développement de ces organites. Mlle Anna F. FAULL [12] a étudié, tout récemment, les leucoplastes d'Iris élaborateurs de lipides et arrive aux mêmes résultats que GUILLIERMOND.

Les recherches toutes récentes de SAVELLI [13] ont démontré l'existence fort curieuse dans les chloroplastes de certaines Cactées, entre autre *Cephalocereus euphorbioides*, de globules lipidiques (1) d'une toute autre nature, qui apparaissent dans ces plantes comme une sécrétion normale des plastes et qui seraient constitués, non par des glycérides ou des phospholipides mais par des stérides. Les chloroplastes de ces plantes auraient donc la propriété de sécréter des stérides. Ces stérides apparaissent sous forme de gros globules réfringents accolés aux chloroplastes et extérieurs à ceux-ci — « parastomatiques » — dont la surface libre serait entourée d'une fine membrane protéique, différente de la paroi même du plaste et conférant à ces globules une certaine individualité dans le plaste. Ce savant a désigné sous le nom d'*éleochloroplastes*, ces plastes sécré-

(1) Il y a lieu de distinguer ces lipidoplastes des corps, improprement désignés sous le nom d'éleoplastes par WAKKER dans les racines de Vanille et retrouvés ensuite dans beaucoup d'autres plantes. Il a été démontré par GUILLIERMOND que ces corps lipidiques, de constitution chimique plus ou moins complexe selon les cas, et qui sont localisés dans le cytoplasme, n'ont rien à faire avec les plastes. On a décrit également, dans les cellules des Hépatiques, des éleoplastes qui sont, de même, distincts des plastes et dont la signification et la nature chimique est encore inconnue.

teurs de stérides. Le terme d'éléochloroplastes (du grec : élaion = huile) n'est pas correct dans notre cas ; celui de *stérinochloroplaste* (1), d'ailleurs proposé, mais non adopté par SAVELLI, conviendrait mieux, ou bien le terme général de *lipidochloroplastes*.

Ces plastes particuliers ont été également l'objet des recherches de CASALAINA [14].

SAVELLI a établi en outre une relation entre l'amidon et ce lipide (amidon lipidique) tout en contestant la possibilité pour le stérol d'être d'origine photosynthétique. Il a établi la nature de ces globules par les réactions de LIEBERMANN, de CIACCIO, par leur biréfringence en lumière polarisée. Il n'a pu obtenir ni la saponification de ces lipides, ni la formation, au dépens des globules, du complexe stérol-digitonine.

La nature de ces globules lipidiques a été, en outre, déterminée par GOLA, qui admet que leur constituant principal est un phytostéride. Il fait, en outre, un rapprochement entre la constitution chimique des stérols et celle de la chlorophylle. Cependant l'étude précise effectuée par SAVELLI et GOLA de ces stérinoplastes laisse subsister une lacune importante, car ces savants se sont bornés à des observations vitales incomplètes et n'ont pas suivi l'origine et l'évolution des stérinochloroplastes avec les techniques mitochondriales si précieuses que nous possédons aujourd'hui. Il nous a donc paru intéressant de reprendre l'étude des stérinochloroplastes, en essayant de compléter la caractérisation chimique des globules lipidiques sécrétés par ces chloroplastes, et de suivre l'origine et l'évolution des plastes qui les sécrètent à l'aide des techniques mitochondriales. Pour cela nous nous sommes efforcée d'étudier des plantes encore très jeunes permettant de suivre la formation des stérinochloroplastes et d'étendre nos observations à un grand nombre de Cactées, en particulier à des espèces dont SAVELLI a négligé

(1) Ce terme de stérinoplastes a été employé pour la première fois par M. MIRANDE pour désigner des formations trouvées dans l'épiderme des écailles bulbaires de *Lilium candidum*. Ces formations se présentent sous forme de gros corps constitués par un complexe protides et lipides parmi lesquels domine un stérol. M. MIRANDE les avait attribuées à des plastes élaborateurs de stérols (stérinoplastes). Mais il a été démontré par les travaux récents de EMBERGER et MIRATON, puis de REILHES que ces corps sont intravacuolaires et doivent être considérés, non comme des plastes élaborateurs de stérols, mais comme de simples concrétions vacuolaires.

l'étude, de manière à nous rendre compte de la généralité de ces formes de plastes.

Dans ce travail, nous examinerons d'abord les caractères morphologiques des stérinoplastes, puis les comportements microchimiques de leur produit de sécrétion de nature lipidique et enfin nous aborderons l'étude de leur origine à l'aide des techniques mitochondriales.

Ce sujet d'étude nous a été proposé par M. A. GUILLIERMOND, membre de l'Institut, professeur à la Sorbonne, à qui nous tenons à exprimer notre profonde gratitude pour la bienveillance avec laquelle il nous a accueillie dans son laboratoire et nos plus vifs remerciements pour les conseils éclairés qu'il n'a cessé de nous prodiguer dans la poursuite de nos recherches.

Nous exprimons notre sincère reconnaissance à M. GAUTHERET, docteur ès sciences, pour l'aide précieuse qu'il nous a apportée constamment.

Notre travail a été facilité grâce à la complaisance de M. GUILLAUMIN, professeur au Museum national d'Histoire naturelle, qui nous a permis d'effectuer des germinations dans les serres du Jardin des plantes et que nous tenons à remercier ainsi que M. THIÉBAUT, horticulteur, qui nous a fourni gracieusement les échantillons nécessaires.

II. — TECHNIQUE

Notre technique a consisté en des observations vitales, en des réactions microchimiques réalisées directement sur des tissus vivants ou sur des coupes à congélation et enfin en l'emploi des techniques mitochondriales.

A. — Observations vitales.

Celles-ci ont été toutes effectuées sur des coupes faites à la main ou sur des lambeaux d'épidermes détachés à l'aide d'une aiguille lancéolée et montées dans le liquide de RINGER. Nous avons eu recours à l'emploi des colorants vitaux (bleu de crésyl et rouge neutre) qui s'accumulent dans les vacuoles pendant la vie des cellules et permettent de préciser les détails de structure de ces dernières et les

rapports des vacuoles et des diverses inclusions cellulaires. Enfin, nous avons pu effectuer directement, sur ces tissus vivants, une série de réactions microchimiques dans le but de préciser la nature de la substance lipidique sécrétée par les stérinochloroplastes : colorations par le Soudan III, le Scharlach, la teinture d'Alkanna, le bleu d'indophénol naissant (NADI), le noir Soudan, récemment préconisé par LISON [15], l'acide osmique, la réaction de LIEBERMANN. C'est enfin sur ces tissus vivants que nous avons essayé l'action des divers solvants des lipides sur les concrétions lipidiques des stérinochloroplastes. Les tissus vivants ont été également observés en lumière polarisée afin d'apprécier la biréfringence des lipides sécrétés par les chloroplastes.

B. — Coupes à congélation.

Celles-ci ont été faites après une fixation au formol (12 heures). On peut répéter sur ces coupes les mêmes réactions que nous avons faites sur les tissus vivants, et, en outre, effectuer la réaction de SMITH-DIETRICH dont nous indiquons plus loin la technique. Les coupes peuvent être effectuées également sur des tissus vivants, mais la congélation détermine la mort des cellules et des altérations consécutives. Cependant, ces coupes, faites sur des tissus vivants, plus minces que les coupes à la main, nous ont parfois facilité l'étude de la biréfringence des lipides. Ajoutons que les coupes à congélation, évitant l'action de l'alcool et du xylol, après fixation par la méthode de REGAUD, permettent d'obtenir la conservation des lipides dans l'intérieur des stérinochloroplastes. On peut alors, sur la coupe colorée par l'hématoxyline ferrique, mettre en évidence par le Soudan III la présence, dans les stérinochloroplastes, de globules lipidiques qui apparaissent colorés en rouge dans les chloroplastes teints en noir.

C. — Coupes à la paraffine obtenues par fixation et coloration par les techniques mitochondriales.

Nous avons employé la méthode de MEVES et celle de REGAUD. Ces méthodes sont trop connues aujourd'hui pour qu'il soit nécessaire de les décrire ici. Nous renvoyons au Précis de microscopie de LANGERON [16].

Ajoutons que nous avons utilisé la méthode préconisée par GUILLIERMOND pour mettre en évidence l'amidon dans les chloroplastes, c'est-à-dire, le traitement, par le réactif iodo-ioduré, des coupes préalablement fixées et colorées par la méthode de REGAUD.

D. — Liste des espèces étudiées.

Cephalocereus senilis, *Echinocereus procumbens*, *Euphorbia canadensis*, *Echinocactus melocactiformis*, *Opuntia subulata*, *Echinocactus ingens*, *Opuntia perrita*, *O. leptocaulis*, *Mamillaria decipiens*, *Echinocactus Grusonii*, *Cephalocereus bawosus*, *Cereus silvestris*, *C. grandiflorus*, *marginatus*, *spachianus*, *pruinusosus*, *geometrizans*, *jamacaru*, *stellatus*, *pitahaya*, *Echinocereus conglomeratus*, *Cephalocereus chrysacanthus*, *Coryphantha erecta*, *Echinocactus rectipinus*, *Cephalocereus euphorbioides*.

III. — CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES DES STÉRINOCHLOROPLASTES

La plupart des espèces précitées renferment souvent des inclusions lipidiques dans leurs chloroplastes, mais qui n'ont rien de comparable à celles signalées par SAVELLI. Elles n'ont donc pas de stérinochloroplastes. Nous avons cependant trouvé des plastes comparables aux stérinochloroplastes, mais ne contenant que de très petites inclusions lipidiques, dans *Echinocactus melocactiformis*, *Mamillaria decipiens*, *Echinocactus grusonii*, *Cereus pitahaya*; nous en avons observés également dans *Cereus pruinosus*, mais seulement dans l'épiderme. D'autre part dans *Aloe variabilis*, nous avons constaté que certains plastes renferment des globules lipidiques, mais qui paraissent d'une nature chimique différente de celle signalée par SAVELLI; ceux-ci s'en distinguent notamment par le fait qu'ils réduisent fortement l'acide osmique.

Par contre, nous avons pu mettre en évidence l'existence de stérinochloroplastes tout à fait semblables à ceux décrits par SAVELLI, dans *Echinocereus procumbens* (fig. 2, 2) espèce que ce savant n'a pas examinée, ainsi que dans *Cephalocereus senilis* (fig. 2,

1), qui, selon ce même auteur, en serait dépourvu. Dans cette dernière espèce, les chloroplastes renferment, en effet, des globules lipidiques qui ne diffèrent de ceux de *Cephalocereus euphorbioides* et d'*Echinocereus procumbens* que par leur taille plus petite et qui, à cet égard, sont comparables à ceux de *Cereus geometrizans* (*Myrtillocactus geometrizans*) étudiés par CASALAINA. Notons, tout de suite, que dans cette dernière espèce, en plus des stérinochloroplastes du parenchyme, il existe, dans l'épiderme, des stérinochloroplastes formés d'une très petite gouttelette de lipide à laquelle est attaché un tout petit plaste vert avec un grain d'amidon (nous retrouvons ces formes, mais plus volumineuses dans d'autres espèces).

Nous avons repris succinctement l'examen morphologique des stérinochloroplastes de *Cephalocereus euphorbioides* décrits par SAVELLI et nous n'avons observé *Cephalocereus senilis* qu'à titre de comparaison. Nos recherches ont porté surtout sur *Echinocereus procumbens* et c'est cette espèce que nous prendrons comme type dans cette étude.

Si l'on fait une coupe dans une région quelconque du tissu chlorophyllien de la tige d'*Echinocereus procumbens* et qu'on l'examine au microscope dans la solution de RINGER, on constate, que, dans presque toutes les cellules, les chloroplastes assez volumineux renferment de gros globules que l'on pourrait prendre à première vue pour des grains d'amidon. Ces globules sont disposés à la périphérie du chloroplaste de telle manière qu'ils font souvent saillie hors du plaste formant une sorte de hernie. Il est facile de démontrer que ces globules ne représentent pas des grains d'amidon, car ils sont soudanophiles et présentent une série de réactions, dont nous parlerons plus loin, qui indiquent leur nature lipidique. Ces globules apparaissent avec une teinte verdâtre et l'on pourrait se demander s'ils ne renferment pas de la chlorophylle, ce qui serait possible étant donné la grande solubilité de ce pigment dans les lipides. On peut facilement se rendre compte qu'il n'en est rien, car en écrasant légèrement la préparation de manière à faire sortir ces globules du chloroplaste qui les renferme, ceux-ci apparaissent tout à fait incolores.

Ces globules qui, nous l'avons dit, font souvent saillie hors du plaste sont toujours entourés même sur leur surface libre par une mince pellicule appartenant au substratum du plaste. En traitant la préparation par l'alcool, comme l'a fait SAVELLI, on obtient la

dissolution des globules lipidiques et cette pellicule subsiste. Toutefois, il est nécessaire pour cela, dans l'espèce que nous avons étudiée d'opérer avec de l'alcool à 70°, car ces globules ne sont pas solubles dans l'alcool à 30 ou 35°, même après plusieurs jours de traitement. En procédant de la sorte, les globules apparaissent dans le plaste sous forme de grosses vacuoles incluses dans son intérieur et enveloppées, sur leur face de contact avec le cytoplasme, par une mince pellicule de substance plastidiale. Mais l'emploi des coupes à la paraffine obtenues par la méthode de REGAUD donne des résultats beaucoup plus probants. Par ce procédé, les chloroplastes apparaissent fortement colorés en noir par l'hématoxyline ferrique et montrent à leur intérieur, dans un point voisin de leur périphérie de grosses vésicules qui correspondent à l'emplacement qu'occupaient les corps lipidiques dans leur intérieur et qui ont été dissous par les traitements à l'alcool et au xylol exigés par les coupes : il est facile de se rendre compte que, même dans les parties de ces corps en contact avec le cytoplasme, ces globules lipidiques sont séparés de ce dernier par une mince pellicule colorée en noir foncé (fig. 4, pl. III). On peut d'autre part s'assurer que ces vésicules, situées dans l'intérieur des chloroplastes, ne correspondent pas à des grains d'amidon en employant le procédé de GUILLIERMOND, c'est-à-dire en traitant par le réactif iodo-ioduré les préparations obtenues par la méthode de REGAUD : celui-ci laisse toujours subsister ces vésicules incolores dans le chloroplaste qui reste coloré.

Dans la plupart des cas, chaque chloroplaste renferme de deux à trois globules lipidiques dont l'un est généralement beaucoup plus volumineux que les autres. Les plus gros mesurent de 3 à 6 μ de diamètre, alors que le volume du chloroplaste atteint 7 μ de diamètre environ.

La substance fondamentale du chloroplaste qui renferme la chlorophylle présente *in vivo* un aspect légèrement granuleux qui est dû, en partie, à la présence de petits grains d'amidon.

On pourrait penser que les stérinochloroplastes que nous venons de décrire correspondent à des chloroplastes particuliers affectés à une fonction spéciale et localisés dans un petit nombre de cellules.

Il arrive fréquemment que, dans une tige très jeune, les globules lipidiques ne se rencontrent, dans une même cellule, que dans un très petit nombre de chloroplastes, deux ou trois par exemple. Ceci

conduirait donc à penser que la fonction d'élaboration de ces globules lipidiques pourrait être limitée seulement à un certain nombre de chloroplastes spécialisés dans cette fonction et qui seraient les sté-

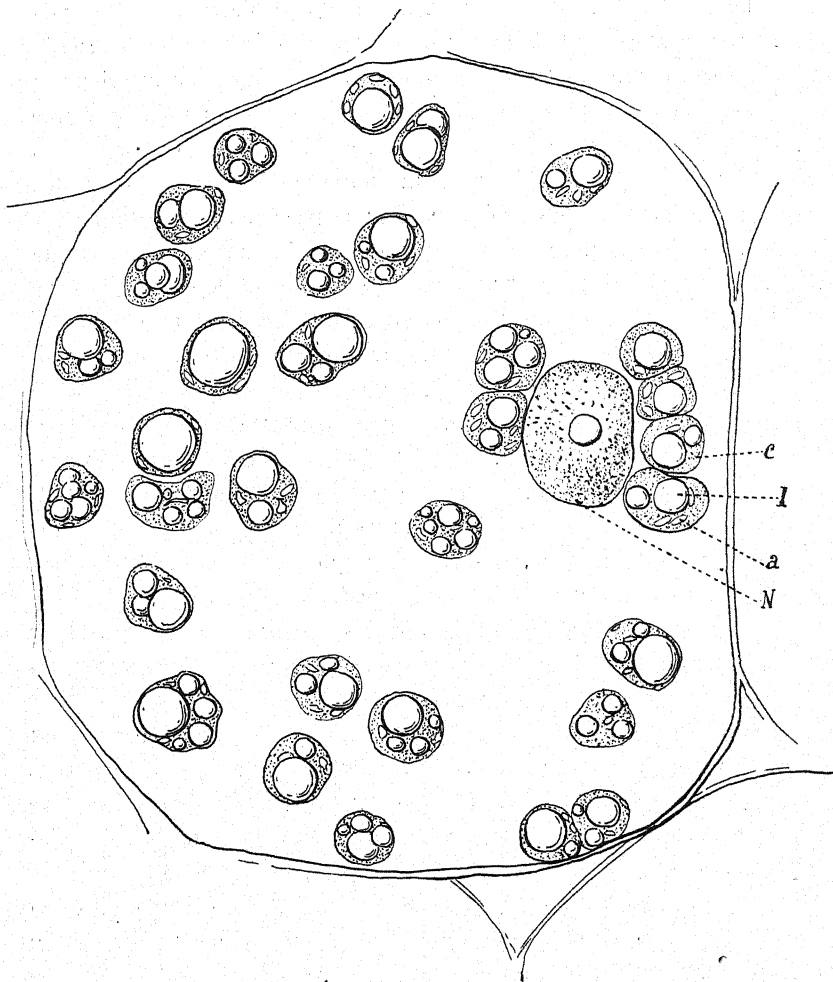


Fig. 1. — Cellule du parenchyme d'*Echinocereus procumbens* (in vivo) avec stérinochloroplastes : c, où l'on distingue un globule lipidique : l et des grains d'amidon : a ; N : noyau de la cellule ($\times 1000$).

rinochloroplastes. Mais l'observation du développement de la tige montre qu'il n'en est rien, car, dans une tige plus âgée, tous les chloroplastes d'une même cellule finissent par contenir des globules

lipidiques. Cela prouve simplement, comme cela a été constaté pour l'amidon, que la sécrétion des globules lipidiques ne s'effectue pas simultanément dans tous les plastes d'une même cellule ; mais, au bout d'un certain temps, tous les chloroplastes d'une même cellule, transformés en stérinochloroplastes, renferment sensiblement les mêmes proportions de globules lipidiques (fig. 1)

Par contre, l'élaboration de ces globules lipidiques est plus ou moins active et s'effectue plus ou moins rapidement dans les diverses régions de la tige. Le nombre et le volume des globules lipidiques varient donc selon la région considérée et c'est dans les parties périphériques (écorce) de la tige que la sécrétion lipidique est la plus active.

IV. — LOCALISATION DES STÉRINOCHLOROPLASTES

Il y a lieu de distinguer, au point de vue de cette sécrétion lipidique, trois régions : 1° l'*épiderme* ; 2° l'*assise sous-épidermique* et 3° le *parenchyme*. Nous les étudierons successivement.

A. — Epiderme.

L'épiderme de la tige adulte est dépourvu de chlorophylle. Si l'on détache, à l'aide d'une aiguille lancéolée un fragment de cet épiderme, on est frappé de la grande abondance de globules réfringents et complètement incolores qu'on y trouve (fig. 2, 5 et 6). Il est facile de constater que ces globules sont bien localisés dans le cytoplasme, au moyen de colorations vitales par le rouge neutre ou le bleu de crésyl qui s'accumulent dans la vacuole, tant que la cellule est vivante, et qui laissent ces globules complètement incolores. L'examen microchimique de ces globules montre d'ailleurs qu'ils ont les mêmes comportements que les lipides inclus dans les chloroplastes des autres cellules. En observant l'épiderme de tiges très jeunes, on constate d'abord la présence de petits chloroplastes : ceux-ci forment bientôt de minuscules grains d'amidon, puis ensuite apparaît, dans chacun de ces chloroplastes, un gros globule lipidique (ou plusieurs qui se fusionnent en un seul) et la paroi du plaste se réduit bientôt à une mince calotte coiffant le globule lipidique sur l'un de ses côtés et renfermant de petits grains d'amidon. L'étude

des coupes colorées par la méthode de REGAUD, dont il sera question plus loin, confirme d'ailleurs la formation de ces globules au sein de petits chloroplastes.

Au moment où le globule lipidique apparaît dans ces plastes il semble que la chlorophylle soit résorbée ce qui pourrait indiquer que la chlorophylle n'intervient pas dans la formation de ces globules lipidiques. Lorsque les cellules épidermiques sont parvenues à leur entier développement, la paroi mitochondriale qui entoure ces globules, après s'être réduite à une mince calotte polaire, semble disparaître en totalité et l'on ne retrouve plus trace des chloroplastes dans lesquels ils ont pris naissance. Ces globules paraissent alors libres dans le cytoplasme : ils sont très déformables et ont une tendance, à la mort de la cellule, à se fusionner les uns avec les autres.

Il semble donc se produire ici un cas analogue à celui que l'on constate dans la formation de l'amidon dans les cotylédons des graines de Légumineuses et à celle des protéides du sac embryonnaire des Liliacées, formés dans des plastes qui disparaissent complètement après avoir élaboré leur produit.

B. — Assise sous-épidermique

Des lambeaux d'épidermes détachés de tige de jeunes plantes ou de bourgeon, quand ils renferment l'assise sous-épidermique, montrent, par transparence, que cette dernière renferme de nombreuses et fines gouttelettes lipidiques (fig. 1, 3). Dans les plantes plus âgées, ces gouttelettes confluent en un seul gros globule (fig. 2, 4) comparable par sa taille et son aspect aux globules que l'on trouve dans l'épiderme. Ce globule reste toujours coiffé par le plaste qui l'a élaboré et qui apparaît sur l'un de ses pôles sous forme d'une mince calotte. Par un traitement par l'iode, on constate que chacun de ces globules renferme sur le pôle occupé par la calotte plastidiale un petit grain d'amidon. C'est dans cette assise sous-épidermique et dans l'épiderme que les globules lipidiques apparaissent en premier lieu.

Il y a ici une disproportion entre le volume du globule lipidique et celui du plaste dans lequel il se forme, disproportion constatée fréquemment par GUILLIERMOND dans la formation des grains

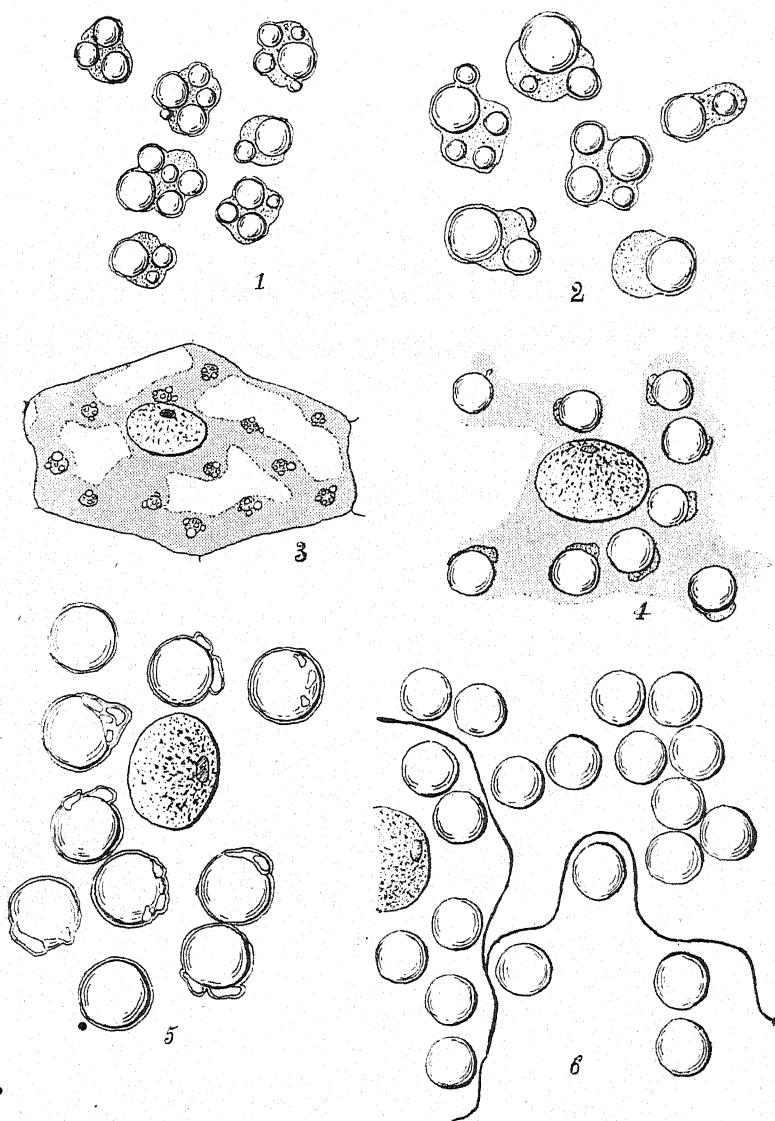


Fig. 2. — *Cephalocereus senilis*: 1 quelques stérinochloroplastes. — *Echinocereus procumbens*: 2: stérinochloroplastes. — 3: Cell. de l'assise sous-épidermique (jeune). — 4: Stérinochloroplastes et noyau de l'assise sous-épidermique (adulte). — 5: Globules lipidiques jeunes de l'épiderme montrant des grains d'amidon. — 6: Globules lipidiques adultes de l'épiderme libres dans le cytoplasme. (1, 2, 3, 4, 6 ($\times 1000$). 5 ($\times 1500$)).

d'amidon qui naissent généralement dans de minces chondriocotes et peuvent acquérir cependant de fortes dimensions. Ceci nous montre que la dimension des plastes ne paraît pas être en relation avec leur activité, puisque les chloroplastes très petits de l'assise sous-épidermique et de l'épiderme sont susceptibles d'élaborer des lipides en plus grande quantité que les gros chloroplastes du parenchyme. Les plastes les plus actifs, au point de vue de cette sécrétion, semblent même être les plus petits. On sait d'ailleurs que les chloroplastes des plantes les plus évoluées en organisation sont généralement les moins volumineux, mais les plus nombreux. Cela semble constituer des conditions plus favorables si l'on admet que ces chloroplastes sont le siège de phénomènes de surface, car en ce cas leur zone d'action est plus étendue pour un volume égal. Il est donc plus vraisemblable d'admettre que ce soit ce facteur surface plutôt que le facteur volume, suggéré par SAVELLI, qui intervient ici dans le fonctionnement du plaste.

C. — Parenchyme

On constate qu'à mesure qu'on s'avance vers le centre de la tige, les chloroplastes contiennent de moins en moins de globules lipidiques et parfois même en sont dépourvus : c'est ainsi que les gros amyloplastes du centre de la tige, qui ne produisent qu'un gros grain d'amidon entouré d'une mince pellicule mitochondriale (fig. 1, pl. II), sont dépourvus de globules lipidiques.

V. — RELATIONS ENTRE LES LIPIDES ET L'AMIDON

Il y a lieu de noter que les chloroplastes contiennent une abondante réserve d'amidon. Il est facile de s'en rendre compte en traitant les coupes de tige par le réactif iodo-ioduré. Dans la majorité des cas, cet amidon se colore en brun ou jaune (fig. 4 et 5, pl. II), même si l'on emploie un réactif très dilué, solution d'iode à 1 ‰ + KI à 3 ‰ ou eau iodée, selon le procédé indiqué par REILHES [17]. La faible dimension de ces grains et leur superposition dans le plaste font que leur biréfringence et le phénomène de la croix noire ne peuvent généralement pas être mis en évidence en lumière polarisée. Ce n'est que lorsque les grains sont plus gros et moins nombreux que

l'on peut obtenir parfois leur coloration en violet par l'iode. Il n'en reste pas moins évident que cet amidon a des caractères très particuliers par la coloration brun-jaunâtre et non brune qu'ils prennent avec le réactif iodo-ioduré. SAVELLI en a donné l'explication suivante : il considère ces grains comme des « grains d'amidon lipidique » analogue à celui décrit par BRUNO dans l'Aloès ; c'est-à-dire dans lesquels les réactions caractéristiques de l'amidon ne peuvent être réalisées par suite de la présence, dans leur substance, de lipides. Nous avons retrouvé ce même amidon spécial aussi bien dans *Echinocereus procumbens* que dans *Cephalocereus euphorbioides* où

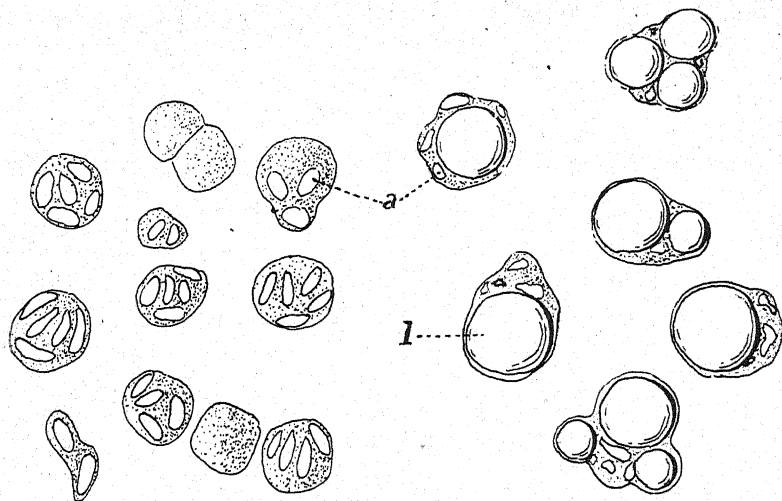


Fig. 3. — Chloroplastes d'*Echinocereus procumbens* — à gauche chloroplastes jeunes avec seulement de l'amidon : a. à droite : stérinochloroplastes adultes avec peu d'amidon a et beaucoup de lipide : l. ($\times 2000$).

il a été étudié par SAVELLI. Nous n'avons pas étudié cette question d'une manière spéciale et nous nous bornerons à signaler les caractères assez spéciaux de cet amidon sans chercher à en donner une interprétation.

• Il existe certainement une relation entre l'amidon et le lipide, car l'on constate un balancement entre la production de ces deux substances (fig. 3), mais l'interprétation de ce phénomène est extrêmement délicate. Nous verrons plus loin, par l'étude de l'origine et l'évolution des plastes, que la formation de l'amidon précède celle des globules lipidiques et que les grains d'amidon tendent à dispa-

raître au moment de l'apparition des globules lipidiques : ce fait serait favorable à l'idée d'une transformation de l'amidon en lipide. On sait que l'on admet que, dans la germination de la graine de Ricin, les grains d'amidon qui se forment dans la plantule, proviennent des produits de digestion de l'huile.

Il est cependant impossible, au point de vue chimique, d'admettre la possibilité d'une transformation directe de l'amidon en stéride, la composition d'un stérol et celle de l'amidon étant très différente. Peut-être pourrait-on simplement supposer que l'amidon contribue par une suite de transformations à produire les acides gras éthérifiant ces stérols.

Ajoutons que SAVELLI a remarqué que la déshydratation qui provoque une diminution dans l'élaboration de l'amidon peut inversement déterminer une sécrétion plus abondante du lipide.

VI. — NATURE CHIMIQUE DU LIPIDE ÉLABORÉ PAR LES STÉRINOCHLOROPLASTES : SES CARACTÈRES PHYSIQUES ET MICROCHIMIQUES.

A. — Réactions microchimiques générales des lipides

Nous avons cherché à déterminer la nature du lipide sécrété par les chloroplastes dans *Echinocereus procumbens*. Malgré le grand nombre et la forte dimension des globules lipidiques renfermés dans ces plastes, cette détermination est très délicate. Les réactions des lipides, sont, en effet, très nombreuses et très peu sont caractéristiques. La difficulté est d'ailleurs augmentée du fait que les globules en question sont formés par un mélange plus ou moins complexe.

Nous nous sommes inspirée pour cette détermination de la remarquable mise au point publiée récemment par LISON. Ce savant a fait une étude critique des réactions histochimiques des lipides et a indiqué les plus caractéristiques.

Parmi ces réactions, les deux plus caractéristiques, selon LISON, sont la coloration par le *Soudan* et le *Scharlach*, réaction due au fait que ces colorants sont plus solubles dans les lipides que dans

l'alcool dans lequel ils ont été dissous. LISON considère la coloration par ces deux réactifs comme spécifique (1), des lipides.

Sur coupes fraîches ou sur des lambeaux d'épiderme, il est facile d'effectuer la coloration par le Soudan au moyen de solution de ce colorant dans l'alcool à 70° : il faut éviter, en effet, d'employer un alcool plus fort qui, généralement, dissout les lipides, surtout les lipides à l'état de mélange. Les globules lipidiques des chloroplastes prennent au bout de dix minutes à un quart d'heure une teinte rouge très nette, puis à la longue le substratum du plaste finit lui-même par se colorer ce qui s'explique facilement par le fait qu'il est constitué par un complexe lipoprotéique très riche en lipides.

Le Scharlach employé de la même manière donne les mêmes résultats.

Comme nous l'avons dit, la coloration des globules lipidiques des chloroplastes par le Soudan ou le Scharlach peut être effectuée sur des coupes fixées par le mélange de REGAUD et colorées ensuite par l'hématoxyline ferrique : les globules lipidiques apparaissent alors en rouge dans le plaste teint en noir. On obtient ainsi de très belles préparations que l'on peut conserver dans la gélatine glycerinée. (fig. 3 pl. II).

La teinture d'*Alkanna* donne également aux globules lipidiques des chloroplastes une teinte rouge caractéristique. Le *bleu de quinoleine* (cyanine) les colore également, mais lentement, en bleu.

Une solution de *chlorophylle*, considérée aussi comme un réactif spécifique des lipides parce que soluble dans ces corps, colore également les globules des plastes : il est très facile de s'en rendre compte sans même employer une solution spéciale de chlorophylle, car, lorsqu'on traite une coupe fraîche par l'alcool fort ou par un solvant des lipides, le pigment du plaste passe dans les globules lipidiques qui prennent une teinte verte très nette avant d'avoir le temps de se dissoudre.

Le bleu d'indophénol naissant (mélange Nadi) donne de très bons résultats : les globules lipidiques des plastes prennent une belle teinte bleu foncé extrêmement nette. Nous avons complété ces réactions par le noir Soudan, préconisé récemment par LISON, qui

(1) Peut-être cette opinion est-elle exagérée et il est bien difficile d'affirmer la spécificité d'un colorant. En tout cas les essences partagent avec les lipides la propriété de se colorer par le Soudan et le Scharlach.

donne aux globules lipidiques une coloration noire très tranchée et permet de les distinguer même lorsqu'ils existent sous forme de fines gouttelettes.

Les globules lipidiques se colorent également en brun, par une solution concentrée d'iode iodo-iodurée; cette coloration est donnée généralement par les lécithines. Les globules lipidiques des chloroplastes ne se colorent par aucun colorant vital (bleu de crésyl, rouge neutre, vert Janus, etc., contrairement à ce que l'on constate pour certains corps lipidiques, notamment pour les concrétions de phytostérol de l'épiderme des écailles de *Lilium candidum* (M. MIRANDE).

B. — Caractères de solubilité.

D'une importance capitale en chimie biologique, les caractères de solubilité ont une valeur moindre en histochimie. En effet, la plus ou moins grande perméabilité des membranes et la prédominance de liquides aqueux gênent la pénétration de certains dissolvants. En outre, on a presque toujours affaire à des mélanges qui n'ont pas les mêmes propriétés que les corps purs : par exemple l'insolubilité des lécithines dans l'acétone est fortement mise en défaut lorsque celles-ci se trouvent mélangées à des acides gras.

L'alcool ne se montre pas un très bon solvant des lipides, bien que les lécithines soient cependant solubles même dans l'alcool dilué.

Il a fallu, dans le cas des globules lipidiques sécrétés par les chloroplastes, un traitement à l'alcool absolu de plusieurs heures pour obtenir leur dissolution complète. Cette faible solubilité est très commode, car elle permet de déshydrater les coupes par un passage rapide à l'alcool absolu avant de les traiter par les solvants des lipides non miscibles à l'eau, mais solubles dans l'alcool : *chloroforme* dans lequel la dissolution des globules lipidiques des plastes est alors instantanée, *tétrachlorure de carbone*, *sulfure de carbone*, *xylo*, *toluène*, *benzine* dans lesquels les mêmes globules lipidiques sont solubles au bout de quelques secondes.

(1) Ils ne prennent pas non plus, contrairement aux concrétions de stérides de l'épiderme de *Lilium candidum*, en coloration postvitale, le bleu coton, le rouge de ruthénium et l'hématoxyline de Delafield.

Lorsqu'on traite les coupes par l'*acétone anhydre*, les globules lipidiques des chloroplastes se gonflent, se déforment, se fusionnent, puis se dissolvent lentement. Au bout de quelques heures, la dissolution est complète et il ne subsiste aucun résidu.

Les globules lipidiques des chloroplastes sont, en outre, très solubles dans la pyridine. Ils sont solubles aussi dans l'hydrate de chloral, l'acide acétique cristallisable, l'acide trichloracétique. En se dissolvant dans ce dernier, les globules prennent une légère teinte rose virant ensuite au vert ; ce réactif doit être employé très concentré : pour cela, il suffit de déposer quelques cristaux d'acide trichloracétique sur la lamelle ; ces cristaux sont déliquescents et l'humidité de la lamelle et de la coupe suffit à les faire fondre. On sait qu'une coloration rose est obtenue généralement par les ergostérols. La même réaction devrait se produire avec l'hydrate de chloral mais nous n'avons pu réussir à l'obtenir.

Les globules lipidiques paraissent très hydrophiles, car un simple traitement à l'eau suffit à provoquer leur gonflement et leur fusionnement : les globules se comportent alors comme en présence d'un faible solvant, mais sans jamais se dissoudre. On obtient ainsi des figures d'aspect myélinique, mais qui ne présentent pas de biréfringence. Le même phénomène se produit avec les bases et les acides forts qui ne dissolvent pas les globules lipidiques. Avec la potasse, les globules lipidiques de *Cephalocereus senilis* et de *Echinocereus procumbens* se comportent d'une manière un peu différente : alors que dans *C. senilis*, les globules lipidiques restent homogènes, dans *Echinocereus*, ils prennent un aspect granuleux que l'on ne peut identifier avec les cristaux typiques des savons : cela s'observe surtout pour les globules lipidiques de l'épiderme. La saponification, selon les indications de MOLISCH, caractérisée par la production de longues aiguilles à la suite d'un traitement des coupes fraîches par un mélange à parties égales de potasse et d'ammoniaque, n'a d'ailleurs jamais pu être obtenue.

C. — Caractères optiques.

L'étude des caractères optiques des lipides, bien que ne permettant pas de déterminer ces substances avec certitude, peut cependant présenter quelque intérêt. Examinés à l'état frais, en lumière ordinaire, les globules étudiés ont la réfringence particulière des

lipides. En lumière polarisée, la plupart de ces globules, notamment ceux de l'épiderme, ne présentent pas de caractères particuliers : ils ne s'illuminent pas entre nicols croisés et se comportent comme des corps isotropes ; par contre, les gouttelettes lipidiques du cylindre central se comportent comme des sphérocristaux (ou cristaux liquides de LEHMANN) et montrent le phénomène de la croix noire. C'est là un caractère des cholestérides et des phospholipides. Cette propriété est surtout apparente dans les plastes des régions voisines des faisceaux libéro-ligneux et s'observe mieux chez *C. senilis* que chez *Echinocereus*.

On ne peut obtenir le même phénomène dans les régions périphériques de la plante, où le lipide est vraisemblablement de même nature chimique, ni par montage au sirop de lévulose, ni par refroidissement. Ceci supposerait une différence, tout au moins d'ordre physique entre ces globules lipidiques et les précédents.

Cette biréfringence, observée sur des tissus vivants, semble déjà exclure la présence des glycérides qui sont généralement à l'état liquide donc isotropes.

D. — Réactions microchimiques des stérides et des lipides complexes.

a) *Acide osmique*. — La réduction de l'acide osmique par les lipides ne donne pas d'indications vraiment précises sur la nature de ces derniers ; son action se produit d'une manière un peu plus spécifique seulement lorsqu'il est additionné d'un oxydant comme l'acide chromique dans le mélange de Mevès employé comme fixateur. Appliqué aux globules lipidiques des plastes, ce dernier n'a pas donné de bons résultats, car les globules réduisent trop peu l'acide, pour résister à l'inclusion à la paraffine. Employé seul, l'acide osmique donne aux gouttelettes lipidiques une teinte assez faible : brun-verdâtre (même dans les globules des plastes des cellules épidermiques qui sont dépourvus de chlorophylle). Ceci semblerait prouver qu'il y a peu de liaisons éthyléniques $=C=C=$ (quoique l'acide oléique, qui n'est pas saturé, ne réduise pas toujours l'acide osmique).

Dans les recherches sur les lipides, on obtient parfois de bons résultats par un traitement à l'alcool après une faible réduction, les lécithines donnent presque toujours un noircissement secondaire

intense. Dans notre cas ce traitement n'a pas donné de résultats bien appréciables.

On admet généralement que les cholestérides et les phospholipides prennent avec l'acide osmique une teinte brune ou jaunâtre, alors que ce réactif donnerait aux glycérides une teinte noire. Ceci semble donc exclure définitivement l'idée que ces globules lipidiques soient formés de glycérides.

Bien que cette réduction ne soit nullement spécifique des lipides et que les différents degrés de brunissement ne donnent pas d'indications vraiment précises sur la nature des globules lipidiques sécrétés par les chloroplastes, nous sommes amenée à l'hypothèse que ceux-ci sont constitués par un phytostéride.

b) *Réaction de Fischler*. — Nous avons essayé de déceler, dans ces globules, la présence d'acides gras libres par la *réaction de Fischler*. Celle-ci est basée sur la combinaison des acides gras libres à un sel de cuivre (sulfate, acétate) et sur la formation à température ordinaire, ou mieux à 40°, d'un savon coloré, bleuté ou verdâtre. Les globules lipidiques étudiés prennent par cette réaction une légère teinte verte, mais nous n'avons pas obtenu la formation d'un savon. Cette réaction n'est, d'ailleurs, pas très spécifique d'après LISON.

c) *Réaction de L. Smith*. — Nous avons utilisé la réaction de L. SMITH basée sur la coloration du sulfate de bleu de Nil par les glycérides qui n'est caractéristique que lorsqu'on obtient une teinte rose. Cette méthode n'a donné dans les globules d'*Echinocereus* qu'une coloration violacée qui ne signifie rien ou une coloration bleue qui serait favorable à la présence d'acides gras libres. SMITH a proposé également l'emploi de colorants basiques d'aniline. Violet de Dahlia, bleu de méthyle, rouge neutre, vert de méthyle, qui ne nous a donné aucun résultat et semblerait exclure la présence d'acides gras libres.

d) *Méthode de Ciaccio* (1). — Cette méthode s'est montrée négative dans tous les cas ; les globules lipidiques des stérinochlo-

(1). — *Technique* : 1° Fixation pendant 2 jours dans : bichromate de K à 5% : 80 + formol 20 + acide acétique 5 cc. 2° Postchromiser 5 à 8 jours dans bichromate de K à 3%. 3° Laver 24 heures à l'eau courante. 4° Inclure à la paraffine. 5° Colorer les coupes déparaffinées 1/2 h. à 1 heure dans : alcool à 80° : 95 cc. + acétone 5 cc. + Soudan III à saturation. 6° Rincer à l'alcool à 50°. 7° Monter à la glycérine-gélatinée.

roplastes ne sont pas insolubilisés par le bichromate de potassium, même si l'on prolonge la chromisation. En général les lécithines sont conservées par un tel traitement et se colorent par le Soudan sur les coupes déparaffinées. La réaction négative serait donc favorable à la présence de stériles et l'absence de lécithines. D'ailleurs, dans cette réaction, le fixateur employé est un mélange de bichromate de potassium, de formol et d'acide acétique ; or les globules lipidiques étudiés sont solubles dans l'acide acétique : il est donc impossible de les conserver.

d) *Réaction de Smith-Dietrich* (1). — Effectuée sur des coupes à congélation ou des prélèvements d'épiderme, elle est négative pour nos globules lipidiques et semble infirmer définitivement la présence de la lécithine, que leur coloration en brun par le réactif iodo-ioduré aurait pu faire supposer. On peut noter simplement qu'elle est positive pour le substratum du plaste, sans doute en raison de sa constitution lipo-protéique.

e) *Réaction de Liebermann* : Une des réactions les plus caractéristiques des stériles est certainement la réaction de LIEBERMANN-BURCHARDT ; elle a été adaptée à l'histochimie par ROMIEU. Appliquée au cas présent, elle ne donne un résultat positif qu'après une déshydratation énergique par la chaleur (2). L'acide sulfurique étant à lui seul un déshydratant énergique, on peut penser que cette température élevée favorise, en outre, l'oxydation du stérol, facilitant la réaction telle que la pratique SCHULTZ. Cet auteur met en évidence l'oxycholestérol par un mélange d'acide acétique et d'acide sulfurique.

L'action préalable de la chaleur, a été utilisée par SAVELLI

(1) *Technique* : 1° Coupes à congélation de matériel formolé. 2° Traiter 1-2 jours à 37° par une solution de bichromate de K à 5%. 3° Laver à fond. 4° Colorer 4-5 heures à 37° dans l'hématoxyline de Kultschitzky : solution d'hématoxyline à 10 % dans l'alcool absolu, mûrie 6 mois : 10 cc. + eau acétique à 2 % : 90 cc. 5° Rincer, différencier dans : ferricyanure de K 2,5 gr. + borax 2 gr. + eau 100 cc. 6° Laver ; monter à la glycérine-gélatinée.

(2) 1° Déposer un prélèvement d'épiderme sur une lame, le chauffer avec précaution sur une petite flamme jusqu'à commencement de dessiccation. 2° Mettre une goutte d'acide sulfurique concentré ; laisser agir 3-15 secondes. 3° Ajouter 2-3 gouttes d'anhydride acétique ; chasser le mélange au moyen de quelques gouttes d'anhydride. 4° Poser une lamelle, luter à la paraffine ; les préparations ne se conservent que quelques heures.

dans les Cactées qu'il a étudiées ; elle est nécessaire aussi dans le cas de notre *Echinocereus*.

Les globules se colorent intensément en rouge par l'acide sulfurique concentré ; mais dans la plupart des cas, la chaleur désorganise plastas et globules et on obtient seulement une couleur diffuse qui vire, par addition d'anhydride acétique, au mauve bleuté, difficilement au vert.

Cette détermination a été complétée sur des extraits ; l'extraction faite par un mélange éther-alcool, a été, après concentration, reprise par du chloroforme. Sur une telle solution la réaction est complète et le virage au vert est très net.

f) *Réaction au chlorure de zinc*. — Il nous a été possible, en outre, de remplacer l'acide sulfurique par du chlorure de zinc, suivant le procédé de *Meesmaecker* [18] pour la caractérisation de l'*ergostérol* : le chlorure de zinc donne une coloration rose, virant au vert par addition d'anhydride acétique.

Mais cette réaction n'est réalisable qu'en milieu chloroformique et ne peut donc être appliquée sur des coupes.

Nous rappellerons seulement l'action de l'acide trichloracétique qui dissout les globules et simultanément développe une légère teinte rose virant ensuite au vert. Ces deux faits nous amènent à envisager l'hypothèse que le stéride dont seraient formés les globules lipidiques des plastas pourrait être un ergostéride.

g) *Réaction à la digitonine*. — La réaction la plus caractéristique des stérols est certainement la précipitation par le digitonide en solution alcoolique. Cette réaction se montre négative pour un stérol estérifié ; n'ayant pas obtenu de cristaux au bout d'une dizaine de jours, il nous est permis de supposer que le constituant principal des globules lipidiques étudiés serait un stéride probablement un ergostérol combiné à un acide gras.

Nous avons essayé, pour obtenir la précipitation du complexe stérol-digitonine, de libérer préalablement le stérol par KOH (procédé employé par Van SILLEVOLDT [19], mais les résultats n'ont pas été concluants étant donné la difficulté de la saponification.

Nous résumerons les résultats obtenus pour cette étude dans le tableau suivant dans lequel nous mettrons en regard les caractères optiques et microchimiques des lipides d'*Echinocereus procumbens* et

TABLEAU RÉSUMANT LES CARACTÈRES OPTIQUES ET MICROCHIMIQUES DES LIPIDES SÉCRÉTÉS PAR LES PLANTES

Lipides sécrétés par les plantes d' <i>Echinocereus procumbens</i>	Lécithines	Stérides	Glycérides
Lumière polarisée. Soudan III. Scharlach. Noir Soudan. Teinture d'Alkanna. Solution de chlorophylle. Bleu de quinquoline. Iode iodo-ioduré concentré. Acide osmique. Méthode de Fischer.	— d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° —	— d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° —	Pas de croix noire. — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° — — d° —
Coloration brune. Coloration brun-verdâtre très faible. Coloration verte par l'acétate de cuivre, mais pas de savon.	Coloration grisâtre. Coloration grisâtre. Pas de coloration.	Pas de coloration. Coloration brune. Pas de coloration.	Pas de coloration. Coloration noire. Pas de coloration.
Méthode de Smith-Dietrich. Méthode de Smith au sulfate de bleu de Nil. Méthode de Ciaccio. Réaction de Liebermann.	Coloration. Pas de coloration. Insolubilisation. Pas de coloration.	Pas de coloration. Coloration violacée peu spécifique. Dissolution du lipide. Coloration rouge virant au vert.	Pas de coloration. Coloration rose. — d° — Pas de coloration.
Méthode de Meesenaeker. Réaction à la digitonine.	Pas de coloration. Pas de formation de cristaux.	Coloration rose des ergostérols. Cristaux du complexe. Stérol-diglytone. Positive. Très solubles.	Pas de coloration. Pas de cristaux. Positive. Très solubles.
Saponification. Ether, chloroforme, benzène, etc.. Acétone. Alcool. Potasse.	Négative. Très solubles. Solubilité lente. Légère solubilité. Figures pseudo-myéliniques.	Très solubles. Légère solubilité. Figures pseudo-myéliniques.	Très solubles. Légère solubilité. Pas de figures myéliniques.

les caractères optiques et microchimiques des lécithines, des stérides et des glycérides.

Les réactions que nous venons d'examiner se sont montrées les mêmes pour les différentes espèces de plastes envisagés.

Ainsi cette étude nous a donc permis de vérifier et de compléter, dans *Echinocereus procumbens*, les observations faites par SAVELLI sur la nature des globules lipidiques élaborés par les chloroplastes de *Cephalocereus euphorbioides*.

VII. — ÉVOLUTION DES STÉRINOCHLOROPLASTES

On sait, depuis les travaux de GUILLIERMOND, que les cellules méristématiques des Phanérogames renferment un chondriome, constitué par des chondriosomes tous de même forme et de même comportement histochimique, semblable à celui des cellules animales et que, au cours de la différenciation cellulaire, une partie des éléments qui constituent ce chondriome se transforment en chloroplastes dans les tissus chlorophylliens et conservent leur forme, mais élaborent de l'amidon dans les tissus incolores. Les autres chondriosomes au contraire, conservent leur forme et leur dimension primitive et ne participent ni à la formation de la chlorophylle, ni à celle de l'amidon. Pour un certain nombre de raisons tirées de l'évolution des plastes dans la série végétale et sur lesquelles nous n'insisterons pas ici, GUILLIERMOND a été amené à admettre la présence, dans les végétaux chlorophylliens, de deux catégories d'éléments semblables morphologiquement et histochimiquement aux chondriosomes des cellules animales, dont les uns (plastés) spéciaux aux végétaux verts et en relation directe avec la photosynthèse qui les caractérise, ont le pouvoir d'élaborer de la chlorophylle et dont les autres (chondriosomes ordinaires) semblables aux chondriosomes des cellules animales et des cellules des Champignons ont un rôle dans le métabolisme qui n'est pas encore précisé.

Si l'on pratique des coupes longitudinales dans l'extrémité d'une tige d'*Echinocereus procumbens*, c'est-à-dire dans son méristème terminal, à l'aide des techniques mitochondriales, en particulier de la méthode de Regaud, on peut suivre tous les stades du développement des chloroplastes.

Dans les cellules du méristème (fig. 1, pl. III), on observe un gros noyau et un cytoplasme dense avec un chondriome constitué exclusivement par des mitochondries granuleuses. On ne peut distinguer parmi ces éléments, tous identiques, ceux qui sont destinés à se transformer en chloroplastes de ceux qui correspondent aux chondriosomes proprement dits. Dans les cellules en voie de différenciation, les mitochondries grossissent et prennent la forme de vésicules, déterminées par l'apparition, dans leur sein, d'un petit grain d'amidon (fig. 2, pl. III) que les techniques mitochondriales laissent incolores : elles sont alors déjà transformées en petits chloroplastes. En traitant, par le réactif iodo-ioduré, les préparations une fois colorées par la méthode de REGAUD, il est facile d'obtenir dans les parties incolores qui constituent ces vésicules la réaction caractéristique de l'amidon, sans que la paroi mitochondriale se décolore. L'amidon apparaît en jaune, teinte due à l'action du xylol, et lorsqu'on monte la préparation au Baume de Canada il se détache admirablement dans le chloroplaste noir.

En même temps que se différencient les chloroplastes, les chondriosomes proprement dits s'allongent et ont une tendance à prendre la forme de bâtonnets ou de chondriocontes. A partir de ce moment l'on voit bientôt apparaître, sur un côté des chloroplastes, de petites vésicules en forme de sac à paroi mitochondriale très mince qui correspondent à l'emplacement des globules lipidiques, dissous pendant l'inclusion à la paraffine (fig. 3, pl. V). Il est facile de s'assurer que ces vésicules, laissées incolores par le réactif iodo-ioduré correspondent bien aux globules lipidiques. Il suffit, pour éviter l'action de l'alcool et du xylol, de couper à congélation une tige, fixée par la méthode de REGAUD et de la colorer ensuite par l'hématoxyline ferrique, puis par le Soudan ou le Scharlach. Le globule lipidique, conservé, se colore alors en rouge dans le chloroplaste teint en noir foncé (fig. 3, pl. II).

On peut, d'ailleurs, suivre la même évolution sur des plantules. Dans ce cas, la différenciation des chloroplastes se fait encore très rapidement dans le méristème, mais les globules lipidiques n'apparaissent que plus tardivement lorsque la plantule atteint 1 à 2 cm., c'est-à-dire 3 à 4 mois après la germination.

Les faits que nous venons d'observer démontrent donc :

1° que les stérinochloroplastes ne sont pas autre chose que des chloroplastes ordinaires.

2° que la formation de l'amidon précède toujours celle du lipide.

Ajoutons que les vacuoles, aussi bien dans le méristème que dans les cellules différenciées, renferment une substance granuleuse très abondante et éosinophile (fig. B, pl. III), résultant de la précipitation d'un contenu colloïdal très abondant qui n'est pas un tanin, mais dont nous n'avons pu préciser la nature chimique.

En ce qui concerne l'amidon (fig. 4 et 5, pl. II) on rencontre dans les chloroplastes jeunes, de gros grains d'amidon en nombre limité, alors que dans les chloroplastes âgés et transformés en stérinochloroplastes, l'amidon est toujours en plus petite quantité et à l'état de minuscules grains assez nombreux. Inversement les stérinochloroplastes les plus jeunes montrent généralement un assez grand nombre de gouttelettes lipidiques alors que dans les cellules plus âgées, celles-ci sont en nombre limité, mais beaucoup plus grosses. Ceci ne permet donc pas d'admettre, avec SAVELLI, que les globules lipidiques sont entourés d'une membrane propre différente de celle du plaste : ils sont simplement inclus dans la substance semi-fluide et très plastique du chloroplaste, ce qui leur permet facilement de fusionner pour constituer de plus gros globules.

L'évolution des globules lipidiques de l'épiderme peut être suivie, sur les mêmes coupes, à partir du méristème jusqu'aux cellules différenciées (A, pl. III). Les cellules méristématiques de l'épiderme sont en tous points semblables aux autres cellules du méristème. Au cours de leur différenciation, on constate qu'une partie des mitochondries granuleuses qui constituent leur chondriome grossissent et se transforment en petits chloroplastes qui forment de l'amidon, puis on voit bientôt, accolée aux chloroplastes, une petite vésicule qui correspond à l'emplacement du globule lipidique dissous par le traitement exigé par les coupes (fig. 6, pl. III). Ces chloroplastes restent toujours petits, tandis que le globule lipidique qu'ils renferment augmente au contraire rapidement de volume, puis le plaste perd sa chlorophylle et se réduit à une mince calotte, coiffant le globule sur un de ses côtés, qui s'amincit progressivement tandis que l'amidon se résorbe, puis cesse d'être visible et finalement il ne reste plus que le gros globule lipidique de 6 μ environ de diamètre (fig. 8, pl. III).

Quant aux petits plastes de l'assise sous-épidermique, il est plus facile d'étudier leur évolution sur des coupes fraîches et de suivre leur développement pendant la germination. Déjà dans des plantules de un mois, qui ont à peine 1 cm. de hauteur, l'assise sous-épidermique montre de petits chloroplastes très verts possédant de fines gouttelettes lipidiques (fig. 2, 3). La sécrétion lipidique est donc très précoce dans cette assise. Sur des plantes plus âgées, les globules lipidiques grossissent rapidement et finissent par fusionner en un seul globule légèrement plus petit que ceux que l'on observe dans l'épiderme et qui reste attaché à une mince calotte correspondant au chloroplaste (fig. 2, 4). Enfin, dans des plantes plus développées, il ne subsiste plus que de gros globules lipidiques de 5 μ environ adhérents à un petit grain d'amidon.

Dans les préparations traitées par la méthode de REGAUD, les stérinochloroplastes apparaissent, dans cette assise, dans une tige adulte, réduits à une mince calotte mitochondriale coiffant une grosse vacuole correspondant au globule lipidique dissous par le traitement à l'alcool et au xylol nécessité par la coupe à la paraffine.

VIII. — CONCLUSIONS

Les résultats de nos recherches peuvent être résumés de la manière suivante :

A. — *Existence de stérinochloroplastes.* Nos recherches confirment l'existence de stérinochloroplastes signalée par SAVELLI et ses élèves dans diverses Cactées, entre autres *Cephalocereus euphorbioides* et *C. scoparius*, et montrent que ces stérinochloroplastes sont même très répandus chez les Cactées. Elles nous ont amené, en effet, à retrouver leur présence dans une espèce que SAVELLI n'a pas étudiée *Echinocereus procumbens* et dans une autre espèce : *Cephalocereus senilis* considérée par ce savant comme dépourvue de stérinochloroplastes.

B. — *Nature du lipide élaboré par les stérinochloroplastes.* Les recherches histochimiques que nous avons effectuées pour essayer de déterminer la nature du lipide sécrété par les stérinochloroplastes confirment et complètent celles de SAVELLI et nous amènent à admettre que les globules lipidiques des stérinochloroplastes ont bien,

parmi leurs composants, des phytostérols. Et que ces stérols pourraient être plus particulièrement un *ergostérol* combiné à un acide gras. Les acides gras étant vraisemblablement en très petite quantité à l'état libre.

C. — *Origine et évolution des stérinochloroplastes*. Nos recherches ont apporté en outre un complément indispensable à celles de SAVELLI par l'étude que nous avons faite de l'origine et de l'évolution des stérinochloroplastes au cours de la différenciation des cellules à l'aide des techniques mitochondriales. Cette étude négligée par SAVELLI comble une lacune et nous paraît offrir un intérêt tout spécial.

Elle nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

1^o Les cellules du méristème de la tige offrent un chondriome constitué exclusivement par des mitochondries granuleuses, toutes semblables par leur forme et leur comportement histochimique, dont une partie correspond aux plastes et les autres aux chondriosomes proprement dits. Au cours de la différenciation cellulaire, on constate que dans le parenchyme, une partie de ces mitochondries (plastes) se transforment en chloroplastes, tandis que les autres (chondriosomes proprement dits) ne modifient pas leur forme ou s'allongent en chondriocontes.

Une fois constitués, les chloroplastes élaborent d'abord de l'amidon, puis apparaissent, au moment où l'amidon tend à diminuer, les globules lipidiques : ceux-ci se forment à un stade très jeune. Il s'en suit donc que les stérinochloroplastes sont des chloroplastes ordinaires doués de la fonction d'élaborer des stérols et qu'il paraît exister un équilibre entre la sécrétion de l'amidon et celle du lipide.

2^o Dans les cellules épidermiques, les mitochondries granuleuses, correspondant à la lignée des plastes, forment de même de petits chloroplastes qui acquièrent de l'amidon, mais ils perdent très vite leur chlorophylle et le lipide apparaît, tandis que l'amidon et le plaste tendent à disparaître ; et, dans les cellules épidermiques adultes les globules lipidiques apparaissent libres dans le cytoplasme sous forme de corps très nombreux et volumineux. On ne retrouve plus trace des plastes au sein desquels ils ont pris naissance.

Cette sécrétion de stérides au sein de plastes qui ont perdu

leur chlorophylle semble prouver que ces stérols ne sont pas un produit direct de la photosynthèse.

3° Dans l'assise sous-épidermique, les globules de stérides toujours très gros ne conservent de leur chloroplaste générateur qu'une mince calotte située sur l'un de leurs côtés.

D. — *Rôle des stérides élaborés par les stérinochloroplastes.* Sur cette question délicate, nos recherches n'apportent aucun renseignement précis. On pourrait supposer que les stérols très abondants joueraient, par leurs propriétés hygroscopiques, un rôle dans la rétention de l'eau par ces plantes adaptées aux milieux secs. On leur a attribué aussi, dans les plantes, un rôle dans la déminéralisation en phosphates et en calcium. Mais tout ce que l'on peut dire sur cette fonction reste dans le domaine de l'hypothèse.

BIBLIOGRAPHIE

1. — NAEGELI. — Die Stärkekörner 1858.
2. — GODLEWSKI. — Ist das Assimilationsproduct der Musaceen Oel oder Stärke ? *Flora* 1877.
3. — W. SCHIMPER. — Untersuchungen über die Chlorophyllkörper und die ihnen homologen Gebilde — *Jahrb. f. wiss. Bot.* 1885.
4. — ZIMMERMANN. — Ueber Elaioplasten. *Beitr. zum Morph. u. Phys. d. Pflanzenzellen*, 1893.
5. — BUSCALIONI. — Sui lipoidi nei cloroplasti e cromoplasti. *Boll. dell. Acad. Gioenia di Sc. Nat. in Catania*, 1912.
6. — GUILLIERMOND (A.). — Observations vitales sur le chondriome des végétaux et recherches sur l'origine des chromoplastides et le mode de formation des pigments xanthophylliens et carotiniens. Contribution à l'étude physiologique de la cellule. *Rev. Gén. Bot.* p. 31. 1919. — Remarques sur la formation des chloroleucites dans les bourgeons d'*Elodea canadensis*. *C. R. Acad. Sc. CLXXII*, p. 283.
7. — GUILLIERMOND et MANGENOT. — Sur l'Autoplastensekret et le Mesekret de Arthur Meyer. *C. R. Soc. Biol.* p. 89. 1923.
8. — BORODIN. — Ueber die Wirkung des Lichtes auf die Entwicklung von *Vaucheria sessilis*. *Bot. Ztg.* p. 497. 1878.
9. — HOLLE. — Ueber die Assimilationstätigkeit von *Strelitzia Reginae*. *Flora*, 1877.
10. — LI KOUE TCHENG. — L'origine des inclusions grasses chez quelques Algues. *C. R. Soc. Biol.* 1924.

11. — ARTHUR MEYER. — Morphol. und physiologische Analyse der Zelle. Jena. 1920-21.
12. — FAULL (Anna-F.). — Elaioplasts in Iris: a morphological study. *Jl. Arnold Arboretum*, XVI, 225, 1935.
13. — SAVELLI. — Eleocloroplasto — *Rendiconti della R. Accad. nazionale dei Lincei* XI p. 172. 1933.
 Singularissima forma di plastidio assimilatore : Eleocloroplasto del *Cephalocereus euphorbioides*. *Boll. Soc. Biol. Sper.* VIII, p. 1528.
 Osservazioni su alcuni elaborati delle cellule del clorenchima. *Rendiconti della R. Accad. naz. dei Lincei* p. 215. XII. 1934.
 Note botaniche e biologiche XI p. 21, 43, 83, 115. 1933.
 Su alcune forme speciale dell'Eleocloroplasto. *Boll. Orto. Bot. univ. Napoli* XII. p. 55, 1933.
14. — CASALAINA. — Sui cloroplasti di *Myrtillocactus geometrizans*. Note botaniche e biologiche p. 80, XI, 1933.
15. — LISON. — Sur les nouveaux colorants histologiques spécifiques des lipides. *C. R. Soc. Biol.* CXV. p. 202. 1934.
Bulletin d'histologie appliquée. I Revue critique d'analyse histochemique des lipides. X. p. 237. 1935. II. Tableau dichotomique d'analyse histologique, p. 293.
16. — LANGERON. — Précis de microscopie. Masson et C^{ie}. Paris. 1934.
17. — REILHES. — Effets de la concentration de l'iode sur la coloration de l'amidon. *Rev. gén. de Bot.* 41, 177, 1931.
18. — MEESEMAECKER (R.). — Différenciation de l'ergostérol et de l'ergostérol irradié. *J. Pharm. et Ch.* 1930. p. 380.
19. — SILLEVOLDT (Van). — Traité de Chimie végétale. p. 151. 1935. Wattier et Sternon.

EXPLICATIONS DES PLANCHES

PLANCHE II

(Grossissement $\times 1000$)

1. — Cellule (fixée au Regaud, colorée à l'hématoxyline ferrique) montrant des mitochondries : *m* et chondriocentes : *c* et des amyloplastes : *p*.
2. — Cellule avec stérinochloroplastes : *s*; mitochondries : *m* et bâtonnets : *b*.
3. — Stérinochloroplastes colorés à l'hématoxyline avec globules colorés au Soudan III.
4. — Coloration de l'amidon par l'iode (stérinochloroplastes jeunes).
5. — Coloration de l'amidon par l'iode (stérinochloroplastes adultes).

PLANCHE III

(Grossissement $\times 1500$)

Coupes d'*Echinocereus procumbens* fixées au Regaud et colorées à l'hématoxyline.

A. — *Cellule du parenchyme.*

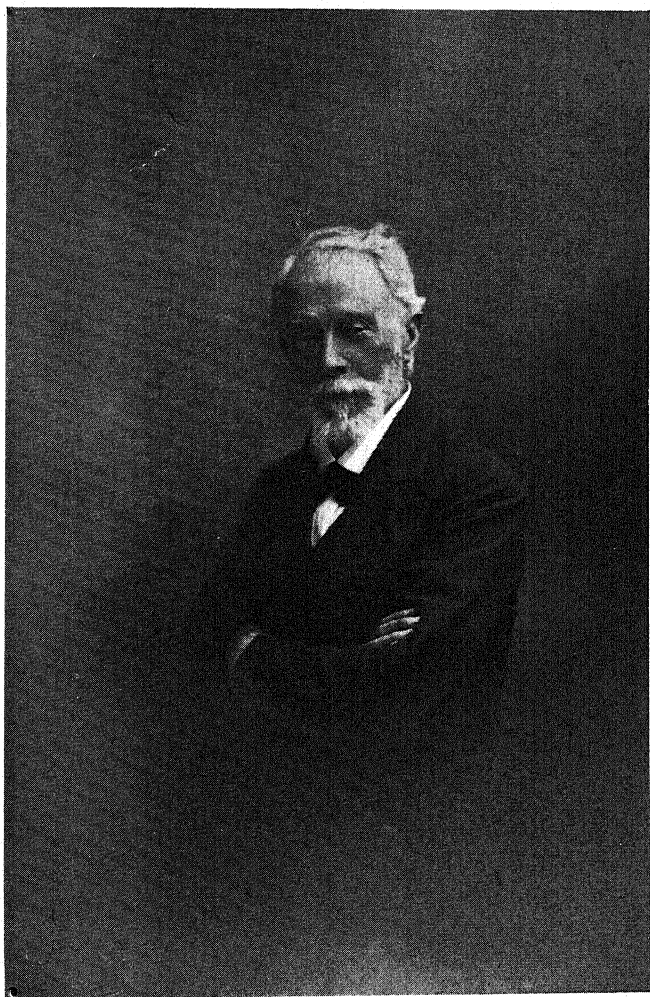
1. — Cellules méristématiques (chondriome homogène : *m*).
2. — Cellules jeunes ; *p* : plaste contenant de l'amidon.
3. — Cellules plus âgées ; *s* : chloroplaste contenant de l'amidon et une gouttelette de lipide.
4. — Stérinochloroplastes adultes.

B. — *Cellule de l'épiderme.*

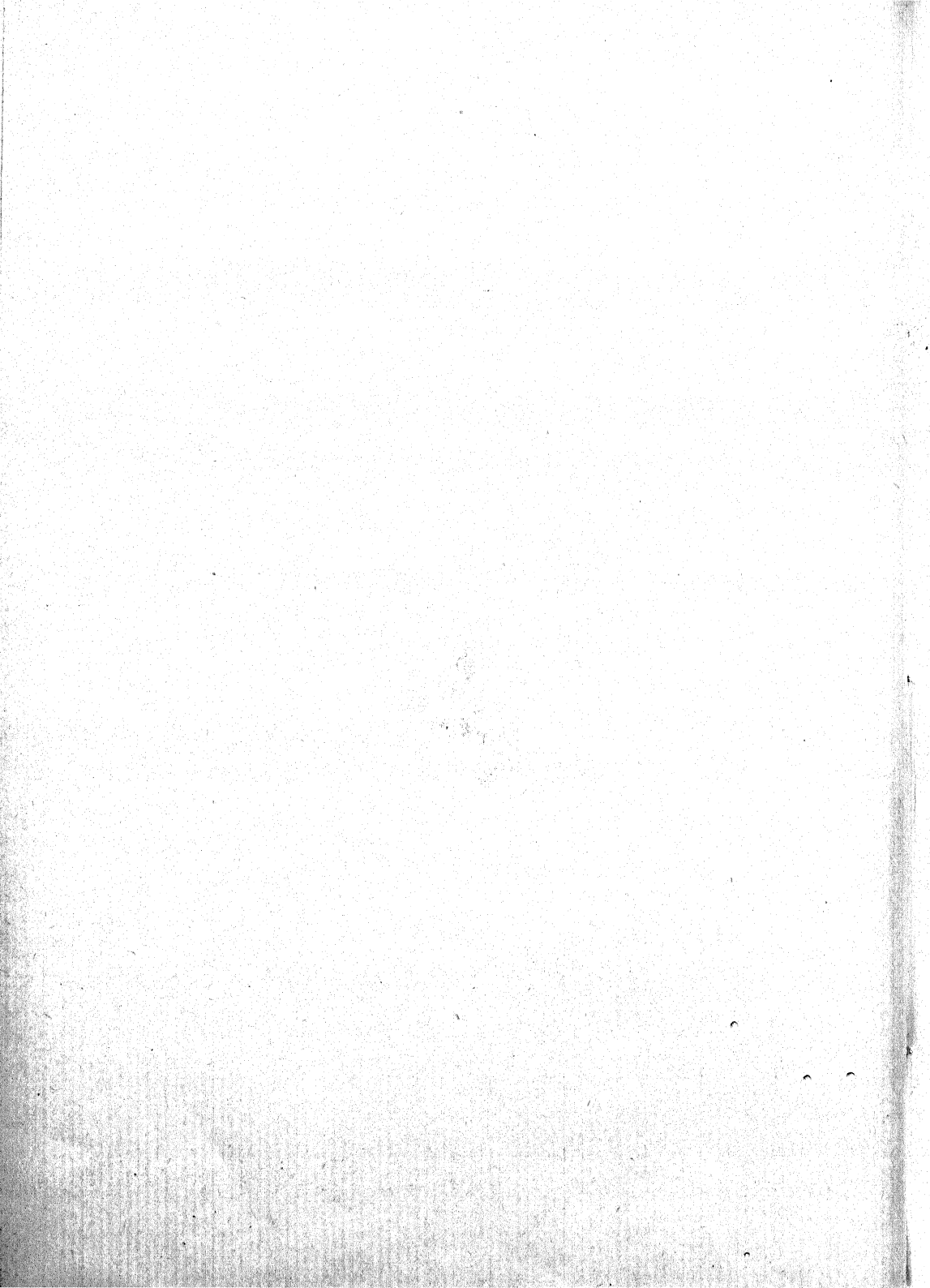
5. — Cellule méristématique ; *m* : chondriome homogène.
6. — Cellules jeunes ; *v* : précipité vacuolaire.
7. — Cellules plus âgées ; *s* : stérinochloroplastes jeunes.
8. — Cellule adulte ; le chloroplaste régresse et il ne reste plus qu'une gouttelette lipidique : *l*.

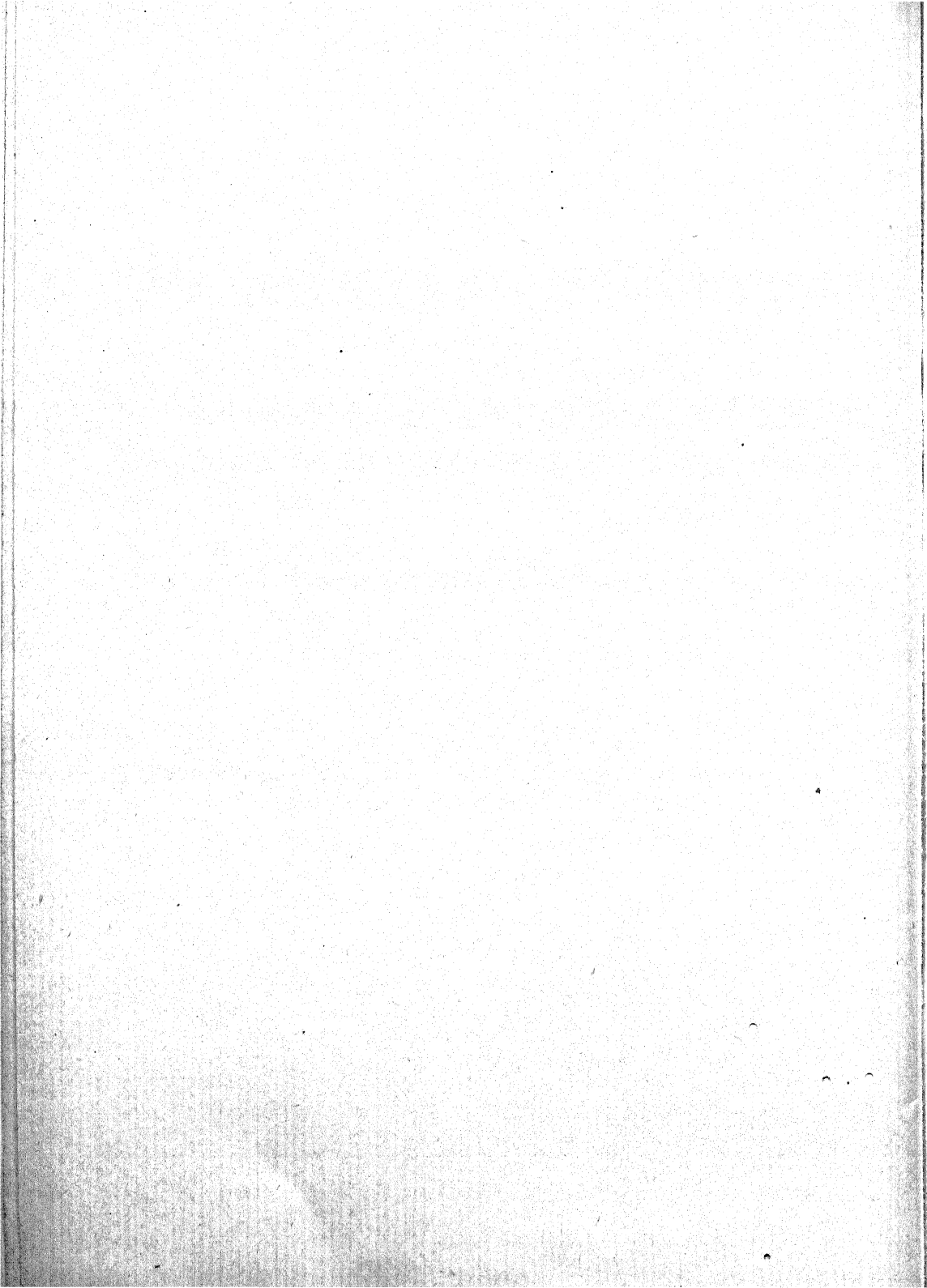
NÉCROLOGIE

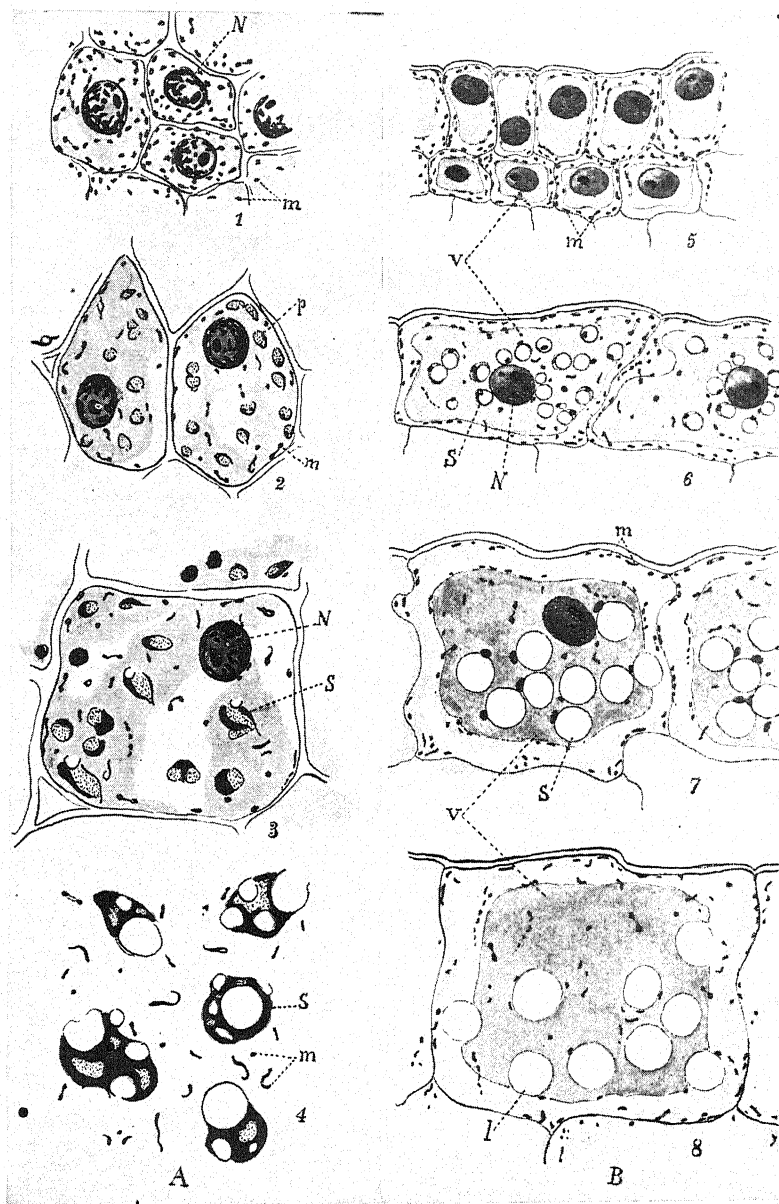
Au moment de mettre sous presse, nous apprenons, avec de particuliers regrets, la mort subite de M. H. JUMELLE, correspondant de l'Institut, professeur à la Faculté des Sciences de Marseille. Il fut, en effet, un des plus anciens et fidèles collaborateurs de la *Revue générale de Botanique* et laisse des travaux remarquables sur la transpiration et l'assimilation des plantes vertes à des températures inférieures à zéro, ainsi que sur la flore tropicale de nos Colonies.



Ch. Flahault



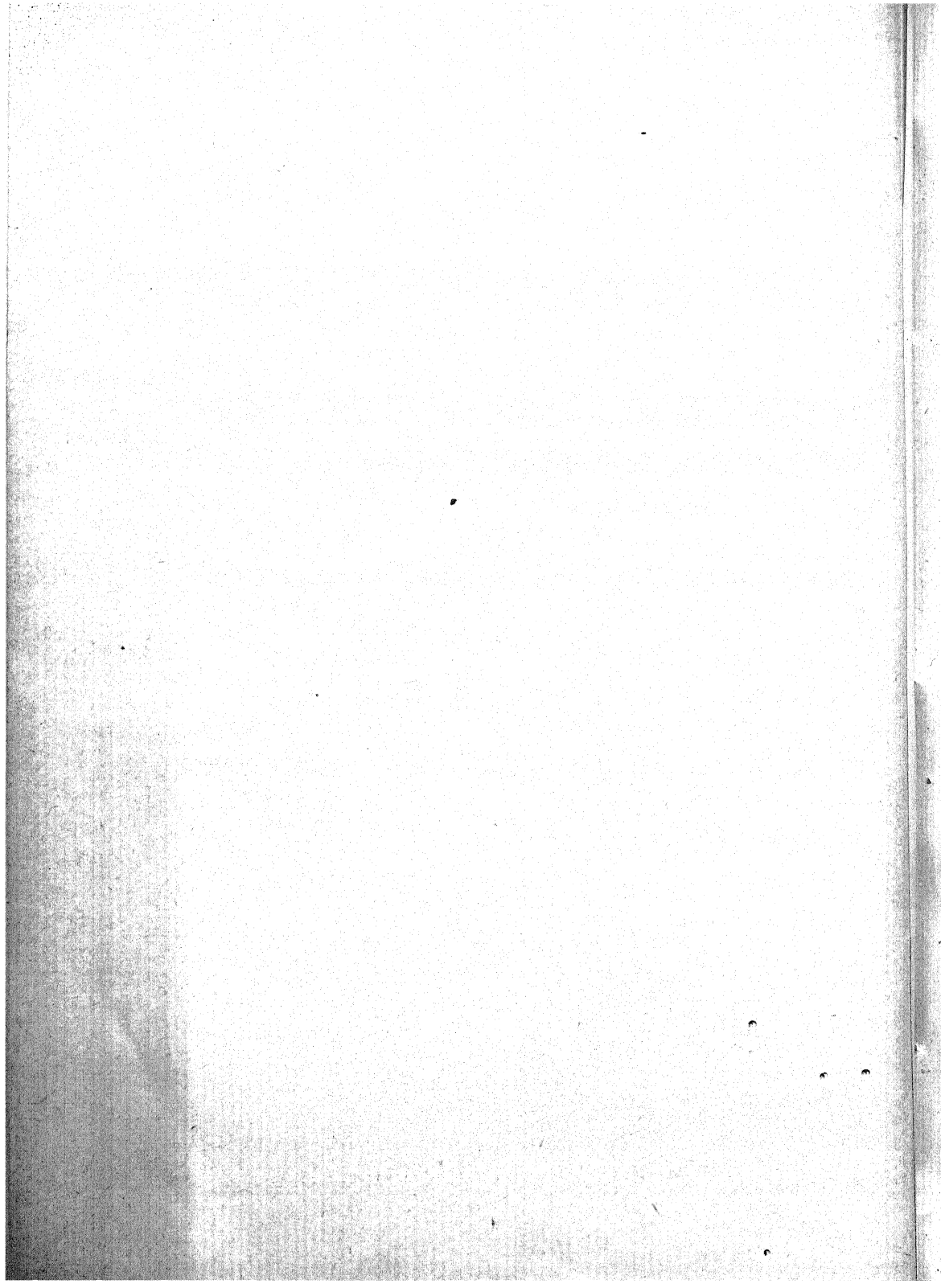




GRIMARD SC.

Mlle MANUEL del.

Coupes d'*Echinocereus procumbens* fixées au Regaud et colorées à l'hématoxyline.



SÉCRÉTION INTRAOVARIENNE

CHEZ LA NIELLE

(*AGROSTEMMA GITHAGO* L.)

par MM. M. MOLLIARD et R. ÉCHEVIN

Le fruit de la Nielle contient, au moins pendant une partie de son développement, un liquide assez abondant, de saveur sucrée, qu'on peut extraire en exerçant une légère pression sur la capsule préalablement perforée dans la région stigmatique. Dans une première récolte de ce liquide, provenant de 816 capsules, nous en avons obtenu un volume voisin de 100 cc. Conservé dans l'alcool à 95°, il ne tarde pas à donner naissance à un précipité gommeux, facilement séparable par centrifugation. Nous avons déterminé la nature des substances en solution dans le liquide alcoolique, puis celle de la matière gommeuse.

1° *Composition du liquide.*

Il fournit 3 gr. 966 de substance sèche contenant environ 4 p. 100 de cendres. Évaporé au bain-marie, sous pression réduite, le liquide laisse un résidu sirupeux, entièrement soluble dans l'eau distillée. Cette solution aqueuse portée à 100 cc., neutre, ne contient qu'une très minime quantité d'azote, aucune trace de saponine ; elle réduit fortement la liqueur cupro-tartrique ; elle donne naissance à une osazone abondante et unique, cristallisant à chaud, identique à la glucosazone ; la réaction des pentoses est négative ; le traitement du liquide par la résorcine chlorhydrique permet de mettre rapidement et très nettement en évidence l'existence de la fonction cétonique ;

concentré et mis en présence de chaux éteinte, il abandonne au bout de quelques minutes le précipité cristallin caractéristique de lévulosate de calcium. Le résidu sirupeux, dissous dans l'alcool méthylique à 70 p.100, agité avec une quantité suffisante d'émulsine puis abandonné à la température du laboratoire, perd, au bout d'une quinzaine de jours, la moitié environ de son pouvoir réducteur par formation de méthylglucoside β (1). Le pouvoir réducteur de la solution aqueuse augmente par l'action de l'acide chlorhydrique étendu au bain-marie bouillant. Une augmentation sensiblement équivalente s'observe par hydrolyse diastasique effectuée à l'aide de la solution de sucrase. La rotation polarimétrique donnée par la solution aqueuse, au tube de 20 cm. est $[\alpha]_D = -0^{\circ}15$. L'ensemble de ces caractères permet de conclure que nous sommes en présence d'un mélange de lévulose, glucose et saccharose en proportions telles que le pouvoir rotatoire de la solution est très faible.

La détermination du réducteur et de la rotation polarimétrique de la solution aqueuse avant et après hydrolyse, de la solution débarrassée soit du glucose par le brome, soit du lévulose par l'acide chlorhydrique à 7,5 p.100, nous a donné les résultats ci-dessous, exprimés en glucose :

Réducteur avant hydrolyse.....	3 g.711
— après —	4 gr.172
— après destruction du lévulose.....	2 gr.273

d'où il est facile de calculer la composition de la solution :

Glucose.....	2 gr.043
Lévulose.....	1 gr.668
Saccharose	0 gr.438

soit au total 4 gr.149 de sucre. C'est, à moins de 5 p.100 près, le poids de substance sèche de la solution ; si, d'autre part, on calcule la déviation polarimétrique, au tube de 20 cm., d'un volume de 100 cc. d'eau, renfermant le mélange des trois sucres tel que nous l'avons défini, on aboutit à une rotation de $[\alpha]_D = -0^{\circ}25$, bien voisine de la rotation observée pour la solution aqueuse initiale.

(1) E. BOURQUELOT et M. BRIDEL. — Recherche et caractérisation du glucose dans les végétaux par un procédé biochimique nouveau. *C.R.Ac.Sc.* t. 170, 1920, 631.

La sécrétion ovarienne de la Nielle est donc presque uniquement constituée par une solution aqueuse de saccharose et des deux monosaccharides qui en dérivent, en dehors de la substance gommeuse dont nous allons maintenant étudier la nature.

2° Nature de la matière gommeuse.

Desséchée à 100-105° cette gomme nous a fourni 0 gr.472 de substance sèche. Elle est très soluble dans l'eau lorsqu'elle est fraîchement précipitée; desséchée, elle n'est qu'incomplètement redissoute: le dixième environ de la substance ne passe plus en solution. La solution aqueuse est opalescente, de filtration difficile, fortement dextrogyre ($[\alpha]_D = +149^\circ$); la gomme n'est pas précipitée par l'alcool acidifié, ni par les sulfates de sodium, d'ammonium ou de magnésium; par contre elle floccule immédiatement par l'acétate basique ou l'acétate neutre de plomb, par les eaux de baryte et de chaux. Elle est également précipitée par la liqueur cupro-tartrique à chaud et ce n'est qu'après plusieurs minutes d'ébullition qu'il se forme une faible quantité de réducteur. Soumise pendant une heure à l'action de l'acide sulfurique à 2 p.100, à la température de 120°, la solution devient fortement réductrice; elle fournit une osazone, cristallisant par refroidissement, semblable à celle du galactose. Il nous avait été impossible, ainsi que nous l'avons signalé dans une publication antérieure (1), d'obtenir sur le liquide la réaction des pentoses à l'orcine chlorhydrique; des tentatives également infructueuses avaient été effectuées pour obtenir la réaction des acides galacturoniques à la naphtorésorcine ainsi que la production d'acide mucique par oxydation nitrique.

Ces échecs doivent être attribués à l'insuffisance de la prise d'essai utilisée pour effectuer ces réactions, probablement aussi à la présence d'impuretés dans la substance gommeuse. Nous verrons, dans ce qui va suivre, que d'autres récoltes de liquide ovarien ont été effectuées; elles nous ont fourni une nouvelle quantité de matière gommeuse dont le poids, après purification effectuée par de nombreuses précipitations successives par l'eau et l'alcool, s'est élevé à

(1) M. MOLLIARD et R. ÉCHEVIN. — Le liquide ovarien de la Nielle (*Agrostemma Githago L*) et ses rapports avec le tégument séminal. C. R. Ac. Sc., t. 198, 1934, 780.

0 gr.530 dont 5 p.100 de cendres dans laquelle le calcium et le magnésium ont été mis en évidence. Le pouvoir rotatoire s'est montré sensiblement plus élevé que dans le premier essai : trois déterminations effectuées sur des solutions aqueuses de différentes concentrations ont donné $[\alpha]_D = +194^\circ, +201^\circ, +197^\circ$. La réaction des pentoses, à l'orcine chlorhydrique agissant sur 10 cc. de solution renfermant 0 gr.025 de gomme, a été, cette fois, particulièrement nette. En traitant au bain-marie bouillant 0 gr.075 de gomme par 20 cc. d'acide nitrique ($D=1,15$) jusqu'à ce que la solution soit réduite au volume de 3 cc., on obtient, plusieurs heures après le refroidissement, un dépôt abondant d'acide mucique. Enfin la présence du noyau uronique a été mis en évidence en opérant sur 5 cc. de solution à 1 p.100 de gomme ; mélangée avec 5 cc. d'acide chlorhydrique ($D=1,19$) et avec 0 gr.100 de naphtrésorcine, soumise à l'ébullition pendant une minute, cette solution se colore fortement et abandonne un précipité soluble dans l'éther ; la teinte rouge violette de la liqueur éthérée, la présence de deux bandes d'absorption, l'une dans le jaune, l'autre dans le vert, sont caractéristiques des acides uroniques.

Tous ces caractères ne laissent aucun doute sur la nature pectique de la substance considérée.

3° *Variations présentées par la composition de la sécrétion au cours du développement de la capsule.*

A la suite de la récolte de liquide ovarien dont il vient d'être question, nous en avons effectué trois autres correspondant à des aspects nettement différents de la sécrétion ; celle-ci ne commence que lorsque les capsules ont acquis un développement notable, le diamètre moyen des graines est alors voisin de 3 mm. A ce stade (A) du développement de la capsule, la sécrétion est incolore, consistante, relativement peu abondante. Plus tard (stade B) le liquide est plus abondant, plus fluide mais encore incolore. Enfin le stade C correspond à un liquide fluide, teinté de brun plus ou moins foncé par une matière colorante qui présente, en solution alcoolique, une belle fluorescence verte. Au cours de la récolte, on constate que les capsules pourvues de liquide coloré sont environ dix fois moins nombreuses que celles qui contiennent le liquide incolore, consistant ou

fluide ; c'est que l'apparition du pigment dans le liquide précède de peu la disparition de celui-ci qui ne tarde pas à être entièrement résorbé. Les volumes des liquides récoltés, mesurés dans des fioles jaugées, se sont élevés, pour chacun des stades A et B à 50 cc. provenant de 658 et de 448 capsules. Pour le liquide correspondant au stade C, plus de 3.000 capsules pourvues de sécrétion ont été examinées, 324 d'entre elles nous ont fourni 36 cc. de liquide coloré.

Le tableau suivant nous renseigne sur les variations de la composition, soit de 100 cc. de liquide ovarien récolté à ces différents stades, soit du volume du liquide correspondant à 1.000 capsules de Nielle.

Stades de développement	Dans 100 cc. de liquide correspondant à			Dans le liquide correspondant à 1.000 capsules		
	1316	896	900			
	Capsules			A	B	C
	A	B	C			
Glucose. ...	2 gr.820	3 gr.044	0 gr.839	2 gr.142	3 gr.397	0 gr.932
Lévilose. ...	2 gr.020	2 gr.324	1 gr.389	1 gr.535	2 gr.594	1 gr.543
Saccharose. .	1 gr.140	0 gr.360	0 gr.	0 gr.866	0 gr.401	0 gr.
Sucres						
totaux ...	5 gr.980	5 gr.728	2 gr.228	4 gr.543	6 gr.392	2 gr.475
Matière						
pectique ..	1 gr.124	0 gr.468	0 gr.230	0 gr.854	0 gr.567	0 gr.255
Pigment ...	0 gr.	0 gr.	présent	0 gr.	0 gr.	présent

La sécrétion ovarienne envisagée est donc essentiellement constituée par un mélange de sucres, saccharose, glucose et lévulose et, de ce fait, elle s'apparente à un nectar ; on y voit le taux des sucres diminuer sensiblement à la phase C ; à ce moment il s'agit pour le saccharose d'une disparition complète.

Quant à la matière pigmentaire, elle est bien vraisemblablement en rapport avec la coloration que prend le tégument des graines vers la fin de son développement ; nous retrouverons en effet cette substance dans le tégument adulte.

4° *Rapport entre le liquide intraovarien et le tégument séminal.*

L'existence d'une telle sécrétion à l'intérieur de l'ovaire de la Nielle pose naturellement la question de savoir, sinon quel en est le mécanisme, tout au moins quelle en est l'origine au point de vue cellulaire ; disons de suite qu'on reconnaît aisément que le liquide en question est sécrété par certaines cellules du tégument séminal, ce qui nous a amené à envisager les caractères que présente ce dernier, soit à l'état adulte, soit surtout au cours de son développement.

Les caractères du tégument séminal des Caryophyllées ont fait l'objet d'un travail d'ensemble de la part de MEUNIER (1) ; ce travail nous servira de point de départ ; les plantes de la famille envisagée présentent, dans leur tégument séminal, un ensemble de caractères qui se retrouvent en particulier dans le genre *Agrostemma* auquel se rapporte la Nielle ; à propos de cette plante, MEUNIER signale que son tégument séminal se fait remarquer par les dimensions extraordinaires de ses cellules épidermiques, leur forme variant d'ailleurs beaucoup avec leur situation à la surface de la graine ; la membrane secondaire, dit l'auteur, en est extrêmement développée partout, sauf sur la face interne où elle est nulle, et présente dans toute son épaisseur une structure lamellaire, se montrant toujours dépourvue des filaments cellulotiques qui existent dans beaucoup d'autres genres tels que *Melandryum*, *Lychnis*, etc... ; les cavités cellulaires, assez restreintes finalement, sont gorgées d'une substance brune, dépourvue de toute structure perceptible ; à l'extérieur, règne une formation cuticulaire désignée par l'auteur, dans la figure 265 de la Pl. VII, sous la lettre *cm*" et suffisamment ouvragée pour constituer un excellent objet d'étude de cette intéressante production, sur laquelle nous reviendrons un peu plus loin. MEUNIER signale d'autre part la très grande sinuosité des contours présentés par les cellules épidermiques et considère l'*Agrostemma Githago* comme pouvant servir de type à cet égard pour la tribu des Silénées, dont tous les représentants manifestent cette particularité à des degrés divers ; cette disposition est représentée par la figure 266 (Pl. VII) de Meunier.

(1) A. MEUNIER. — Les téguments séminaux des Cyclopermées. La Cellule. T. 6 (fasc.2). 1890. 299-392.

Mais, il faut l'avouer, l'ensemble des caractères indiqués par MEUNIER comme se rapportant au tégument de la Nielle ne nous met pas en présence d'une relation s'imposant entre la structure de ce tégument et l'existence de la sécrétion précédemment envisagée au point de vue chimique ; aussi nous ne croyons pas inutile de revenir sur la structure histologique du tégument séminal de la Nielle.

Nous avons effectué des coupes dans des graines prises à plusieurs états de développement et fixées par le liquide acéto-picrique de BOUIN ; tant qu'elles étaient incolores, il était possible d'obtenir des coupes au microtome après inclusion dans la paraffine ; pour les stades ultérieurs correspondant à une teinte plus ou moins noire, il était nécessaire de procéder à des coupes effectuées à la main ou d'inclure les graines dans de la paraffine en employant, comme véhicule, le salicylate de méthyle, suivant la méthode préconisée pour les objets durs, par GUÉGUEN (1). Les graines sont déshydratées par l'alcool absolu, puis plongées dans des mélanges d'alcool et de salicylate de méthyle de plus en plus pauvres en alcool, puis finalement dans le salicylate pur ; on opère également graduellement pour remplacer le salicylate par de la paraffine.

Le tégument présente à l'état adulte (graines de 3 mm.8 de diamètre moyen) une teinte d'un noir foncé et une importante ornementation constituée par de grosses cellules proéminentes ; ces éléments saillants sont disposés suivant des lignes qu'on peut considérer d'une part comme des méridiennes de l'ovule campylotrope, d'autre part comme des lignes confocales par rapport au hile ; elles sont particulièrement développées suivant la surface libre de la graine, celle qui est opposée au funicule (Pl. IV, fig. 1 et 2) ; leur développement est très spécial et mérite, en lui-même et dans ses rapports avec les autres cellules du tégument, d'être considéré aux différents stades de l'évolution de la graine.

Lorsque l'ovule est encore très jeune, qu'on le considère au moment où la fleur s'épanouit (son diamètre est alors de 0 mm.60 environ), le tégument séminal est constitué par trois assises de cellules, une interne dont le suc cellulaire se colore énergiquement par l'hématoxyline, une intermédiaire ne présentant aucun caractère particulier et une externe qui est caractérisée par un développement

(1) F. GUÉGUEN. — *C.R. de la Société de Biologie*. 1898, p. 285.

beaucoup plus accentué que les précédentes et qui contient, dans son suc cellulaire, une matière gommeuse semblable à celle qui caractérise déjà les cellules internes ; colorable par l'hématoxyline, elle fixe aussi très facilement le rouge de ruthénium ; elle nous apparaît comme liée à l'existence de la matière pectique que nous avons décelée dans le jus ovarien qui a été le point de départ de ces recherches, mais qui n'est pas encore exsudé au stade envisagé.

Nous avons représenté dans la fig. 4 de la Pl. IV l'allure que prennent les cellules épidermiques externes à un stade sensiblement plus avancé (les ovules ont alors un diamètre d'environ 2 mm). Un cytoplasme abondant contient de nombreux grains, visibles également dans les trois assises qui proviennent de la division de l'unique assise intermédiaire du début ; il s'agit d'amyloleucites dont la masse générale n'est pas colorée, mais dont le hile a fixé l'hématoxyline ; ces cellules possèdent d'autre part un gros noyau, qui est bien visible sur la fig. 7 de la Pl. VI.

La membrane externe de ces cellules épidermiques est encore peu épaisse, elle est loin de présenter la différenciation qu'elle va acquérir dans la suite.

L'épiderme interne à ce stade continue à être reconnaissable par l'existence d'une substance gommeuse remplissant la vacuole et se laisse d'autre part facilement distinguer par sa cuticule épaisse et d'aspect réfringent.

Dans la figure 7 de la Pl. VI (graine de 2 mm.8 de diam. moyen) on est en présence d'une région du tégument qui comprend deux sortes de cellules superficielles, de grosses cellules *G* qui vont d'ailleurs poursuivre leur développement et des cellules *P* qui vont rester petites ; il convient de les considérer à part dans leur développement ultérieur.

La vacuole des grosses cellules grandit en même temps que celles-ci et présente de bonne heure une série de digitations *r* qui se dirigent vers la base de la cellule ; autour de ces expansions de la masse vacuolaire le cytoplasme s'organise en autant de ramifications indépendantes.

Nous voyons d'autre part, dans la figure 7, que les grandes cellules épidermiques, prenant un grand développement considérable et viennent, aussi bien dans le sens latéral que dans le sens longitudinal, au contact des cellules qui restent petites ; c'est ainsi

que les grandes cellules peuvent recouvrir entièrement un nombre plus ou moins considérable de petites cellules voisines ; mais en même temps elles émettent, entre ces dernières, des sortes de diverticules qui viennent s'implanter entre elles et prendre racine au même niveau ; c'est ce que représente, à un stade plus avancé du tégument d'*Agrostemma bicolor* (graine de 3 mm. de diamètre), la figure 10 (Pl. VII) où un certain nombre de petites cellules P se trouvent recouvertes comme d'un dôme par une grande cellule G qui s'est étalée au-dessus d'elles en émettant les ramifications r.

Cette propriété de s'insinuer entre des cellules voisines on la retrouve d'ailleurs pour les grandes cellules considérées entre elles ; elles sont capables en effet d'arriver au contact l'une de l'autre et de s'engrener entre elles comme le représente très nettement la fig. 9 (Pl. VI).

Au cours du développement la membrane des cellules épidermiques s'épaissit progressivement dans toute la région qui se trouve en contact avec l'atmosphère et ne reste mince que dans la partie par laquelle elle est en relation avec les cellules sous-jacentes ; la cuticule prend de plus de bonne heure des caractères spéciaux qui se traduisent par la production, à la surface externe de la membrane, de sortes de poils très fins qu'on retrouve chez beaucoup de Caryophyllées ; MEUNIER les signale, en particulier dans l'*Agrostemma Githago*, comme formant un revêtement continu d'éléments très ténus et il dessine ces productions comme partant de la surface externe et se développant librement au dehors.

En réalité il s'agit d'une ornementation étudiée antérieurement avec beaucoup de précision par HEGELMAIER (1), chez diverses autres Caryophyllées, en particulier sur l'*Elisanthe noctiflora* ; les figures données par cet auteur sont superposables à celles que nous avons pu obtenir pour la Nielle ; on est en présence de petites excroissances qui se dressent à la surface de la membrane où elles sont réparties d'une manière assez homogène ; elles sont d'autre part recouvertes par une membrane très mince d'origine cuticulaire, qui est visible sur les figures 5 (Pl. V) et surtout 9 (Pl. VI) ; HEGELMAIER a désigné cette disposition sous le nom de *cuticule structurée* ;

(1) F. HEGELMAIER. — Ueber Bau und Entwicklung einiger Cuticulargebilde. *Pringsh. Jahrb. f. wiss. Botanik*. T. 9, 1873-74, 286-307.

elle se retrouve pour toutes les cellules épidermiques, grandes et petites, et permet par sa présence de reconnaître la nature des petites cellules épidermiques qui ont été englobées secondairement par une grosse cellule, par exemple dans la figure 10 de la Pl. VII.

Examinée à un fort grossissement, chacune de ces émergences est constituée par un corps qui a la forme d'un arceau ; elle fixe énergiquement plusieurs colorants et spécialement le rouge de ruthénium ; mais le plus souvent on constate que cet arceau résulte de la réunion vers leur extrémité distale de deux ou trois corps d'abord libres et qui viennent prendre appui entre eux pour former une sorte de faisceau.

Soit dit en passant les figures données par MEUNIER pour la structure de la cuticule de la graine de *Drymaria cordata* correspondent très vraisemblablement à la même disposition ; les ornements sont seulement plus serrés et la cuticule plus développée ; cette cuticule a pu disparaître dans les coupes de Nielle par suite de l'emploi de certains réactifs tels que la potasse et l'hypochlorite de soude.

Toutes les dernières particularités histologiques que nous venons d'envisager sont d'ailleurs sans relation apparente avec l'existence de la sécrétion : il n'en est pas de même de celle qui est représentée dans la fig. 5 de la Planche V, correspondant à une grande cellule épidermique d'une graine dont le diamètre est d'environ 2 mm.8. La coupe passe par l'axe de la cellule envisagée et permet de constater l'existence, au sommet, d'une sorte de papille *pap.* ; cette disposition correspond au fait que la membrane ne subit pas, en ce point, l'épaississement secondaire qui ne va que s'accroître à partir de ce stade ; au sommet de la papille, la membrane reste très mince, à peine plus épaisse que la cuticule ornée dont il a été question précédemment. Cette disposition est acquise au moment où apparaît la formation d'un liquide visqueux encore peu abondant.

Dans les grandes cellules adultes, telles que celles de la fig. 11 de la Pl. VII, qui ont fortement épaissi leur membrane, on retrouve, suivant leur axe, une disposition emblable, mais souvent sans qu'il soit possible de revoir la trace de la membrane, si bien que les cellules paraissent ouvertes à leur extrémité ; il est fort possible d'ailleurs que ce soit le fait d'un accident de préparation ; ce qui est certain, c'est que la structure papillaire que nous avons constatée dans la figure 5 permet de comprendre la sécrétion du liquide qui

commence à s'effectuer précisément vers le moment où cette structure est réalisée, époque à laquelle on cesse d'observer les grains d'amidon qui étaient si abondants dans les stades précédents.

Cette disposition présentée dans la figure 5 n'a pas été signalée par MEUNIER pour la Nielle, mais cet auteur en a décrit une très analogue pour les cellules épidermiques du tégument de *Viscaria oculata* (Meunier, Pl. VII, fig. 273) ; il s'agit alors de cellules dont la membrane secondaire, qui présente en outre, vers l'intérieur, des expansions cellulodiques, cesse de s'épaissir au voisinage du sommet et délimite une sorte de canal aboutissant également à une région qui se trouve réduite à une membrane très mince.

La figure 6 de la Pl. V correspond au même stade que la figure 5 et permet de montrer l'existence, à l'intérieur même du cytoplasme, de cordons très réguliers, présentant, comme la membrane elle-même, la réaction de la cellulose sous l'action de l'iode sulfurique ; il s'agit de diverticules de nature analogue à ceux que nous avons signalés pour des cellules plus jeunes.

Lorsque la structure définitive a été réalisée pour les cellules épidermiques, celles-ci, jusqu'alors d'un blanc pur, se colorent progressivement : et c'est à ce moment que le jus excrété devient lui-même plus ou moins brun et se trouve ensuite progressivement résorbé ; le pigment qui est en jeu se fixe sur la membrane à laquelle les cellules sont réduites ; on peut d'ailleurs extraire de la graine mûre, devenue d'un noir pur, une substance pigmentaire qui présente les propriétés de celle que nous avons antérieurement signalée dans le liquide interne : coloration brune et surtout belle fluorescence verte en solution alcoolique ; on peut réaliser cette extraction en traitant les grains par la solution d'alun ou par des solutions alcalines étendues ; les détails de l'opération et les propriétés du pigment obtenu feront d'ailleurs l'objet d'une note ultérieure.

Le phénomène présenté par l'ovaire de la Nielle est-il isolé parmi les Caryophyllées ? Nous l'avons recherché chez un grand nombre d'espèces du genre *Lychnis* dont nous avons suivi le développement et ce n'est que chez le *Lychnis dioica* L. que nous avons pu observer quelque chose d'analogue ; il se produit en effet, chez cette espèce, une sécrétion comparable à celle qui apparaît chez la Nielle en ce qui concerne le lieu de formation : mais il s'agit d'une substance qui reste très épaisse et constitue un revêtement super-

ficiel des ovules, une sorte de suintement, cette matière est d'ailleurs entièrement comparable comme aspect à celle qui apparaît au début dans la Nielle, mais les choses en restent à ce stade et jamais la sécrétion n'arrive à occuper la cavité ovarienne ; les caractères histologiques des cellules sécrétrices rappellent ceux que nous avons envisagés pour la Nielle, et particulièrement en ce qui concerne l'évolution de l'amidon.

Nous ne pouvons d'autre part nous empêcher de signaler que la nature de la sécrétion et la structure histologique des cellules qui la produisent se retrouvent pour les nectaires ; dans les deux cas, il s'agit d'éléments très comparables, caractérisés par leur richesse en saccharose et la présence de nombreux grains d'amidon, comme on peut le constater dans les nectaires floraux d'*Acer platanoides* et de *Sinapis arvensis* ; on peut considérer la sécrétion ovarienne de la Nielle comme un nectar interne.

D'autre part nous ne pouvons pas ne pas rapprocher notre liquide de diverses sécrétions sucrées que présentent les tiges d'un certain nombre de Silénées, celles du *Lychnis Viscaria* L. par exemple ; on sait que, chez cette dernière plante, il s'établit, à partir de certains entre-nœuds, en dessous de l'insertion des feuilles, une zone sécrétrice ; le liquide produit est assez abondant et très adhésif ; il se comporte comme une glu vis-à-vis de nombreux insectes ; ces zones sont les seules à présenter des poils sécréteurs bicellulaires qui apparaissent comme les producteurs du liquide exsudé ; nous n'en avons récolté jusqu'ici que de faibles quantités ; qu'il nous suffise de dire qu'en dehors des substances sucrées, il contient une matière résineuse ; c'est elle qui explique la capture des insectes et le fait que la pluie est incapable de l'entraîner ; nous comptons revenir sur cette sécrétion spéciale ainsi que sur celle que présente les tiges de *Silene nutans* Sm. Toutes ces productions paraissent avoir une origine commune, et résulter d'une accumulation, en des régions d'ailleurs essentiellement variables, d'une grande quantité de sucre qui arrive à exsuder ; les rôles qu'on est tenté de leur attribuer ne nous paraissent avoir qu'un intérêt d'ordre secondaire.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE IV

- Fig. 1 et 2. — Graines d'*Agrostemma Githago* mûre (Gr=11).
Fig. 3. — Coupe transversale dans l'ovaire, au stade de la fleur épanouie. On y observe la paroi carpellaire et une partie de deux ovules (Gr=130).
Fig. 4. — Tégument séminal; deux grosses cellules épidermiques et trois assises intermédiaires, contenant toutes un grand nombre de grains d'amidon dont le hile a été coloré; *ép.i* épiderme interne et *cut.* la cuticule correspondante (Gr=370).

PLANCHE V

- Fig. 5. — Cellule épidermique avec revêtement cuticulaire *c''*; épaississement secondaire de la membrane interrompu vers l'extrémité et formant une sorte de papille *pap.* (Gr=630).
Fig. 6. — Cellule épidermique présentant des cordons cellulotiques *cell.* (Gr=370)

PLANCHE VI

- Fig. 7. — Grandes cellules *G* et petites cellules *P* épidermiques; *N* noyau, *r* ramification de la vacuole; petites cellules recouvertes par une grande (Gr=190).
Fig. 8. — Tégument détaché de l'amande; *cut.* cuticule structurée (Gr=130).
Fig. 9. — Grandes cellules épidermiques s'engrenant entre elles (Gr=130).

PLANCHE VII

- Les coupes se rapportent à des graines d'*Agrostemma bicolor* Lind.
Fig. 10. — Une grosse cellule épidermique *G* émettant, entre les petites cellules *P* sous jacentes, des diverticules *r* (Gr=370).
Fig. 11. — Grosses cellules épidermiques arrivées à leur maturité. (Gr=130).

LES BIFURCATIONS CHEZ LES HÉPATIQUES A FEUILLES

par M. Ch. DOUIN

I. PARTIE GÉNÉRALE

Mon intention, dans cet article, est de revenir sur la question controversée des bifurcations présentées par les Hépatiques à feuilles. Je donnerai tout d'abord quelques explications sur les initiales et les mérophytes, sur la soudure des organes et surtout sur la soudure de la base des deux branches dans les bifurcations ; j'ajouterai ensuite divers caractères permettant de reconnaître celles-ci, les différentes sortes qu'on peut rencontrer et les vues des auteurs à leur sujet.

a) Notions préliminaires.

Dans ce qui suit, l'argumentation repose surtout sur l'insertion des feuilles ; et celle-ci résulte de la segmentation de l'initiale au sommet de la tige. En effet, d'après LEITGEB qui a sûrement raison, les feuilles se trouvent toujours au sommet des segments qui les ont données, comme je l'ai prouvé chez les Mousses (1) et comme on peut facilement le prouver pour toutes les Hépatiques à feuilles (2). En effet, *dans toutes*, on peut rencontrer des feuilles insérées plus ou moins transversalement dont les files longitudinales et basilaires de-

(1) DOUIN (Ch.), *Développement des feuilles chez les Muscinées*, Bull. de la Soc. bot. de France, 1926, p. 560 ; et *Nouvelles observations sur la feuille des Mousses*, Rev. gén. de Botanique, 1928, p. 65.

(2) DOUIN (Ch.), *La réhabilitation du Fossombronia*, Rev. gén. de Botanique, 1931, p. 246.

cellules se continuent par les files longitudinales de la tige situées au-dessous ; ce n'est possible que si ces files de cellules appartiennent à une même formation, à un même organe (ou mérophyte). C'est d'autant plus évident qu'il y a, à la base de la feuille proprement dite, des cellules qui font partie à la fois de la feuille précédente et de la tige (1) *b, c, d, e* (fig. 28) et qu'une même cellule ne peut pas appartenir à deux organes différents.

1° *Initiales*. — Il y a, sur une tige, trois sortes d'initiales issues les unes des autres : au sommet se trouve l'initiale *principale* ou *terminale* qui donne les initiales *secondaires* (ou segments de premier ordre) (2).

Ces dernières donnent des segments externes de deuxième ordre ou par bipartition d'autres initiales secondaires. Chacune de celles-ci, comme les précédentes, donne un segment externe de deuxième ordre qui joue un double rôle : tout d'abord, il sert à protéger l'initiale secondaire en la rendant interne ; ensuite, il donne à sa partie supérieure une feuille qui protège l'initiale principale du sommet : de là le nom de *segment foliaire* qui peut lui être donné. En réalité, chaque segment foliaire et externe est une *initiale basilaire* ; et ce sont les initiales basilaires ainsi obtenues qui, par des divisions répétées, sont l'origine de toutes les initiales basilaires de la surface de la tige et celles des feuilles proprement dites ; leur formation a été indiquée à propos du *Fossombronina* (3). Ce sont ces initiales basilaires qui forment tous les organes latéraux et saillants de la surface de la tige : poils et paraphylles, feuilles et périanthe, anthéridies et archégones.

2° *Segments et mérophytes*. — On sait qu'une feuille a toujours une insertion de même largeur que le segment qui lui a donné naissance, soit $1/2$, $1/3$ ou $1/4$ de la circonférence de la tige environ, suivant que cette tige a 2, 3 ou 4 rangées de feuilles. En général, les feuilles sont exactement superposées et juxtaposées longitudi-

(1) C'est ainsi qu'une feuille *complète* de Muscinée se compose de 2 parties : la partie libre et saillante ou *feuille proprement dite* et sa *base décurrense sur la tige* A et B (fig. 28) dont il sera question dans cette note.

(2) DOUIN (Ch.): *Le thalle stérile des Marchantiées*. Rev. gén. de Botanique, 1923, p. 487 ; et les initiales secondaires chez les Muscinées, Rev. bryol. 1931, p. 5.

(3) DOUIN (Ch.): *La réhabilitation du Fossombronina*, loc. cit. p. 263.

nalement dans les Hépatiques. S'il en est autrement dans certains genres, comme le *Fossombronia*, cela provient de causes spéciales et exceptionnelles dues à des tiges rudimentaires soudées à la tige principale (Voy. *La Réhabilitation du Fossombronia*, p. 264, loc. cit.) et qui empêchent les feuilles de cette dernière de se développer normalement.

Les segments développés de premier ordre deviennent ce que j'ai appelé les mérophytes constitutifs de la tige. Ces mérophytes se composent de deux parties : une partie inférieure et épaisse qui fait partie de la tige et contribue à la former et une partie externe et aplatie qui est la feuille dont la base est décurrente sur la tige. Il y a là quelque chose d'analogue, sinon d'identique, aux « phyllo-rhizes de CHAUVÉAU (1) ; et ici, le phénomène est absolument sûr.

Les mérophytes sont limités extérieurement par les insertions des feuilles et des amphigastres avec leurs bases décurrentes sur la tige. Ainsi, chaque mérophyte s'étend longitudinalement depuis l'insertion de la feuille qu'il a produite à sa partie supérieure jusqu'à l'insertion de la feuille *située immédiatement et exactement au-dessous* aa' et bb' (fig. 13), m (fig. 41), n et n' (fig. 20) ; et, dans cette partie de la tige, les cellules superficielles sont en files longitudinales très nettes, formant *la base saillante et décurrente de la feuille proprement dite* située au-dessus. Mais, ces files de cellules *ne se continuent pas sur deux mérophytes successifs et exactement superposés*, attendu que ces organes sont formés par des initiales basilaires différentes qui, de ce fait, donnent des files de cellules différentes. La fig. 28 du *Funaria hygrometrica* L. où la feuille proprement dite a été

(1) CHAUVÉAU (G.), *La tige est une formation plus ou moins complexe qui résulte de la coalescence de « caules » plus ou moins nombreuses*. Bull. de la Soc. bot. de France, 1924, p. 580-589.

D'après cet auteur, les plantes vasculaires seraient formées d'une série d'organes fondamentaux et soudés qu'il appelle les « phyllo-rhizes ». Chacun de ces organes comprendrait une partie inférieure ou *rhize* et une partie supérieure ou *phylle* ; cette dernière serait formée par une *caule basilaire* formant une partie superficielle de la tige et une feuille saillante et terminale. C'est exactement ce que l'on voit chez les Muscinées pourvues de feuilles ; la *caule basilaire* correspond exactement à ce que j'appelle la partie des feuilles *décurren-te sur la tige*. Cette curieuse analogie, si toutefois ce n'est pas une identité, entre les Angiospermes surtout et les Muscinées pourvues des feuilles est un argument sérieux en faveur du rapprochement des deux groupes précédents dans une classification naturelle (Voy. *Le développement basilaire de l'archégone*, Rev. bryol., 1933, p. 129).

arrachée en *a, b, c, d, etc.*, est très explicite (Voy. l'explication de cette fig. 28).

3^o *Principe a.* — Quand deux organes, quels qu'ils soient (segments ou mérophytes, nervure, thalle ou tige), sont soudés, les initiales qui les ont formés étaient aussi soudées (1).

En effet, si les initiales de ces deux organes avaient été séparées à l'origine, elles auraient donné des organes séparés, attendu que *les initiales commencent et forment les organes qui, s'ils sont séparés à leur naissance, resteront forcément séparés dans la suite.* Et, en particulier, dans la fausse-dichotomie de KNY (fig. 12), l'initiale I_2 est née brusquement dans un segment voisin de l'initiale I_1 et *en dehors de la nervure et du thalle primitif.* Cela suffit pour déclarer la non-soudure des deux nervures formées par les deux initiales. Les divers organes (mérophytes, thalles, tige ou nervure) *peuvent être réunis, mais non soudés entre eux, par des formations antérieures au fonctionnement des deux initiales*, comme c'est le cas de la fig. 12 ; mais cela ne contredit en rien le principe *a.*

Pour emporter la conviction, je vais ajouter à la démonstration générale ci-dessus une démonstration particulière aux divers organes soudés.

Segments et mérophytes. — Je laisse de côté le cas de deux segments successifs et du même côté de l'initiale *qui sont forcément soudés*, pour considérer des segments dus à des initiales différentes. Soient les segments *m* et *n* (fig. 2) situés entre les initiales I_a et I_b . Le segment *m* a fait partie de l'initiale I_a qui arrivait alors en *bc* ; de même le segment *n* a fait partie de l'initiale I_b qui arrivait aussi en *bc* ; les deux initiales étaient donc soudées suivant la ligne *bc*. Il en sera de même si les initiales sont séparées par un plus grand nombre de segments (fig. 3), puisque ce cas se ramène facilement au précédent. Et *il en sera encore de même et forcément si les segments, complètement développés sont devenus des mérophytes.* Or, deux initiales soudées proviennent d'une initiale unique divisée en deux autres, attendu que la soudure de deux cellules par le contact n'existe pas chez les Muscinées.

(1) Si j'insiste sur cet axiome, — car c'est bel et bien un axiome, — c'est parce qu'il a été contesté, sans preuve d'ailleurs.

Nervures. — La fig. 1 montre le mode de segmentation de l'initiale du *Metzgeria* ainsi que la formation de sa nervure. On y voit que *tout thalle qui commence est en pointe à sa base et l'observation montre que cette base reste en pointe et ne s'élargit jamais* ; c'est ce qui fait que les rameaux du *Metzgeria*, du *Targionia*, du *Dumortiera*, les rameaux géminés du *Riccia fluitans*, etc., sont toujours en pointe à leur naissance et *restent en cet état* (1). On voit aussi que tous les segments ont fait partie de l'initiale ; et par suite, toutes les parties d'une tige ou d'un thalle équivalent à une tige, (ce qui n'est pas général pour tous les thalles), ont fait successivement partie de l'initiale.

Voici comment se forme la nervure. Chaque segment de l'initiale se divise d'abord en deux cellules : une cellule profonde *p* (fig. 1) *qui occupe la pointe de l'initiale* et qui se divise parallèlement au thalle pour former la nervure ; et une cellule marginale *m* qui ne se divise que latéralement dans le plan du thalle et qui forme la partie correspondante de l'aile. Il résulte de ce qui précède que, chez le *Metzgeria*, *la pointe de l'initiale, dans ses segmentations successives, a occupé toutes les parties de la nervure.*

Soit maintenant la bifurcation imparfaite (fig. 4) où l'on voit deux nervures soudées : la nervure *s u v* formée par l'initiale principale *I*₁ ou *I*_a et la nervure *aa', bb' ds'* juxtaposée latéralement par sa pointe à la nervure précédente et formée par l'initiale *I*_b ou *I*₂ de la fausse dichotomie des auteurs. Cet exposé de l'origine des 2 nervures n'est pas discutable bien qu'on l'ait fait. Ainsi la pointe de l'initiale *I*₂ = *I*_b a occupé les cellules *d, c, i*, etc., de la nervure formée par cette initiale *I*₂ pendant que la pointe de l'initiale *I*₁ occupait les cellules *m, n, v*, etc. de la nervure principale voisine. *Les pointes des deux nervures étaient donc soudées* et il en était forcé-

(1) Cette simple remarque est la condamnation, sans discussion possible, du développement des feuilles par une initiale terminale. En effet, ce développement donnerait *un organe triangulaire avec la pointe en bas*, et enfoncée dans la tige, ce qui n'a lieu dans aucune feuille où c'est généralement tout le contraire. De plus, comme la pointe de l'initiale reste en pointe sans se multiplier, elle ne pourra s'étendre à droite et à gauche pour former l'insertion d'une feuille toujours plus ou moins large. En outre, il faudrait que les cellules basilaires de la feuille *soient enfoncées dans la tige* comme l'initiale qui les aurait produites, tandis qu'elles sont allongées *sur la surface de la tige*, comme le montre toujours l'observation (fig. 28).

ment de même pour les deux initiales tout entières. Or, deux initiales soudées. proviennent d'une initiale unique divisée en deux autres puisque, je le répète, la soudure de deux cellules par le contact ne se fait pas et que deux cellules soudées proviennent toujours d'une cellule unique.

Tige. — La fig. 8 représente une bifurcation parfaite du *Fossombronia Dumortieri* vue en dessus. La tige primitive A s'est élargie et aplatie sur le sol en raison de sa position couchée ; elle s'est divisée en deux branches à peu près égales et semblables qu'il suffit de regarder pour reconnaître que cette bifurcation ne possède *aucun des caractères attribués à la fausse-dichotomie* (1) et qu'elle représente une vraie dichotomie, en un mot ce que j'appelle une bifurcation parfaite. En effet, on voit très nettement à droite comme à gauche que les mérophytes latéraux des deux branches s'appuient sur les mérophytes correspondants de la tige primitive. Ainsi le mérophyte qui a donné la feuille *f'* (fig. 8) qui appartient à la branche gauche s'appuie sur le mérophyte gauche de la feuille *a* de la tige primitive ; et il en est de même à droite pour les mérophytes des feuilles *f* et *b*. De plus, les files longitudinales de cellules de la tige A se partagent en deux groupes juxtaposés *a* et *b* qui se séparent pour se continuer par les files longitudinales de cellules *a'* et *b'* des branches B et C de la bifurcation. On observe le même phénomène sur les tiges couchées, chez le *Calypogeia trichomanis* Corda par exemple. Cette même disposition se voit encore sur les bifurcations des Hépatiques à thalle qui n'ont rien à voir non plus avec la fausse-dichotomie. Une telle disposition est, en effet, impossible avec l'hypothèse précédente dont la branche issue de l'initiale I 2, doit, d'après les auteurs, se juxtaposer latéralement à la branche principale. Dans la fig. 8, les deux branches B et C sont soudées suivant *rv* et continuent toutes deux la tige principale A, ce qui ne se voit jamais dans la fausse-dichotomie des auteurs. Si les deux branches sont soudées suivant *rv* (fig. 8), cela veut dire que, dans la partie soudée, les segments respectifs des deux initiales situés en *aa'* et *bb'* sont soudés ; et il en sera de même (principe *a*) pour les deux initiales qui ont donné ces segments.

(1) Voyez ces caractères dans DOUIN (Ch.), *Finis falsae Dichotomiae* (p. 3).

On voit des caractères analogues sur la fig. 13 qui représente une bifurcation à branches inégales du *Lophocolea cuspidata* Limpr. vue par dessous. Les files longitudinales du haut de la tige simple primitive (1) se divisent aussi en deux groupes *a* et *b* qui se continuent respectivement par les files longitudinales de cellules *a'* et *b'* des deux branches. Dans cette même figure, le mérophyte ventral *aa'* de la branche principale est soudé dans sa partie inférieure au mérophyte *bb'* de la petite branche ; et par suite, comme ci-dessus, les initiales qui ont donné ces deux mérophytes étaient soudées.

b) Opinion des auteurs.

D'après LEITGEB que MÜLLER suit très fidèlement dans sa flore (2), à l'exception du *Fossombronina* qui se ramifierait suivant la fausse-dichotomie de KNY, toutes les Hépatiques à feuilles ont, ou bien des ramifications latérales, ou bien des ramifications ventrales. Toujours, d'après le même LEITGEB, les ramifications précédentes seraient de deux sortes : l'*Endverzweigung* et l'*Interkalare Verzweigung*. Dans la première, le segment de premier ordre, qui normalement doit donner une feuille, se divise longitudinalement et radialement en deux moitiés : l'une qui donne une feuille et l'autre une ramification. De cette hypothèse découlent les conséquences suivantes : la feuille voisine de la ramification doit toujours être *moitié plus petite ou à peu près que les feuilles normales* ; et de plus, *la base de cette ramification doit se trouver à côté de l'insertion de cette feuille réduite* et de sa base décurrente sur la tige. Enfin, dans cette hypothèse, la base de l'initiale de la ramification sera toujours externe et libre comme le segment dont elle provient.

Dans le deuxième mode de ramification, le segment de premier ordre se divise aussi, mais transversalement, *en deux parties superposées* : la partie supérieure donne la feuille ventrale (ou amphigastre) et l'inférieure donne la ramification, toujours d'après LEITGEB ; et là encore, la base de l'initiale de la ramification sera *externe et libre*.

(1) J'appelle *tige simple primitive* toute la partie de la tige située *au-dessous de la séparation des deux branches* de la bifurcation.

(2) MÜLLER (K.), *Die Lebermoose*, Kryptogamen-Flora du Dr Rabenhorst I, p. 36.

A part l'*Endverzweigung*, exacte dans certains cas, toutes ces données sont fausses, bien que certains les regardent comme « définitives ». La fausse-dichotomie comme origine ou début des bifurcations a été inventée par KNY, mais seulement pour le *Metzgeria*. Les auteurs l'ont admise, *sans la moindre preuve*, pour toutes les Jungermanniées anacrogynes, le groupe le plus hétéroclite des Hépatiques, groupe inadmissible par la diversité des genres qui y sont inclus et *qui n'ont aucun caractère spécial et important de commun*. La fausse-dichotomie n'a jamais existé (1), pas plus chez le *Metzgeria* et les autres Hépatiques à thalle que chez le *Fossombronina* (2) et les autres Hépatiques à feuilles, comme je l'ai surabondamment prouvé dans maints articles. D'ailleurs, **personne n'en a jamais donné la moindre preuve**, et *personne n'a jamais réfuté celles que j'ai données sur la bipartition de l'initiale dans les bifurcations*.

Pour les faux-dichotomistes, la démonstration de la fausse-dichotomie, — si toutefois on peut appeler cela une démonstration, — se réduit à des figures comme la fig. 12 qui peut se rencontrer *dans toutes les Hépatiques*. Sur cette figure, on voit très nettement, que les cellules *a* et *b*, *dans l'hypothèse de la fausse-dichotomie*, seront des cellules ordinaires (et non des cellules profondes) qui empêcheront la soudure de la nervure que DOIT DONNER l'initiale I_2 avec la nervure *eiur* formée par l'initiale I_1 . Or, comme chez le *Metzgeria* les deux nervures de chaque bifurcation sont soudées à leur base, elles ne seront pas issues des deux initiales de la fausse-dichotomie.

Quant à l'*Interkalare Verzweigung*, elle est complètement fausse, comme le prouvent les ramifications ventrales dont l'origine est interne et qui soulèvent et percent la surface de la tige pour se faire jour au dehors. D'ailleurs, dans certains genres comme le *Lejeunea*, l'observation montre indiscutablement l'erreur de l'*Interkalare Verzweigung*; en effet, dans ce genre, *c'est la partie supérieure du segment qui donne à la fois la feuille et le rameau*.

Reste l'*Endverzweigung* exacte dans certains cas, mais qui a besoin d'être précisée et ses caractères spéciaux expliqués, ce que

(1) DOUIN (Ch.), *Finis falsae dichotomiae*.

(2) DOUIN (Ch.), *La réhabilitation du Fossombronina*, loc. cit. p. 246.

l'hypothèse de Leitgeb ne peut pas faire, parce qu'elle est mal posée et incomplète.

Dans un travail antérieur (1), j'ai avancé qu'il n'y avait, dans les Hépatiques à feuilles, que deux sortes de ramifications : les rameaux qui sont latéraux ou ventraux et d'*origine interne* (2) et les branches de bifurcations d'origine externe et presque toujours terminales qui font l'objet de ce travail.

Enfin, je dois constater que tout récemment (3), H. BUCH a bien reconnu l'origine interne des rameaux que j'ai décrite et figurée il y a dix ans (4) ; mais cela ne l'empêche pas d'accepter complètement les deux hypothèses de Leitgeb dont l'une affirme le contraire. Inutile de dire qu'il admet la fausse-dichotomie de KNY pour laquelle il donne un schéma explicatif.

c) Différentes sortes de bifurcations et leurs caractères.

D'une façon générale, on peut dire qu'une bifurcation est le passage d'une unitiale à deux initiales ; ou encore le passage d'une tige à deux tiges ou branches qui remplacent la première et forment la bifurcation.

L'hypothèse la plus simple et la plus logique pour expliquer ce fait est de dire que l'initiale primitive se divise en deux autres ; l'hypothèse de la fausse-dichotomie n'a pas le sens commun ; les deux hypothèses de Leitgeb sont vraisemblables, *étant basées sur ce que les segments de premier ordre sont des initiales*, attendu que logiquement une initiale doit donner naissance à des initiales. D'ailleurs, l'Endverzweigung existe bien réellement et forme ce que j'appelle une bifurcation secondaire.

Pour bien comprendre ce qui concerne les bipartitions de l'initiale et les bifurcations chez les Hépatiques, je vais exposer d'abord ce qui a lieu chez le *Metzgeria* où tout ce qui va être signalé peut se voir sur la plante vivante sans coupe ni préparation spéciale altérant le tissu cellulaire.

(1) DOUIN (Ch.), *La théorie des initiales chez les Hépatiques à feuilles*, Bull. de la Soc. bot. de France, 1925, p. 580.

(2) DOUIN (Ch.), *Les rameaux chez les Muscinées*, Rev. bryologique, 1934.

(3) BUCH (H.), *Morphologie et Anatomie des Hépatiques*, in Manual of Bryology de Fr. Verdoorn, 1932, p. 13.

(4) DOUIN (Ch.), *L'énigme du Plagiochila Stableri* W. H. PEARSON, Bull. de la Soc. bot. de France, 1924, p. 1.207.

L'initiale du *Metzgeria* a, en réalité, la forme de la fig. 10. Vue de face sur les thalles couchés, elle montre la forme d'un triangle isocèle à base plus ou moins curviligne Ia (fig. 6). Avec de la patience et à la suite de nombreuses observations, surtout en examinant de préférence les thalles *cachés par d'autres thalles* où les poils nutritifs et protecteurs sont çà et là absents, on peut voir, comme je les ai vues, les fig. 5 et 6 d'une part et les fig. 21 et 22 de l'autre qui donnent la clef des bifurcations.

Dans la bipartition de l'initiale, si la séparation des deux initiales atteint la pointe ou à peu près (fig. 21 et 22), on a une *bifurcation parfaite*, parce que dans ce cas — et dans ce cas seulement — les premiers mérophytes des deux branches s'appuient sur les derniers mérophytes du thalle primitif, comme le montre le schéma (fig. 7). Les segments *u'* et *i'* de l'initiale Ib s'appuient sur le segment *n'* de l'initiale primitive, comme le segment *u* de l'initiale Ia s'appuie sur le segment *n* de l'initiale primitive ; et réciproquement, dans une bifurcation, si l'on voit les premiers mérophytes de la branche droite s'appuyer sur le dernier mérophyte à droite de la tige primitive, et les premiers mérophytes de la branche gauche s'appuyer sur le dernier mérophyte gauche de la même tige primitive (fig. 20), on est en droit d'en conclure que les deux branches de la bifurcation ont été produites par l'initiale de la tige divisée en deux autres de même longueur.

Par contre, le résultat est bien différent quand la séparation des deux initiales s'arrête *assez loin de la pointe de l'initiale primitive*. Dans ce cas, presque toujours, l'initiale Ia (fig. 5) grandit et rejette de côté l'initiale Ib (fig. 6) après avoir repris la grandeur normale de l'initiale primitive ; c'est ce qui fait que, dans la fig. 4, la nervure de l'initiale Ib, se trouve soudée *latéralement* à la nervure de l'initiale Ia. Alors, les deux initiales restent soudées suivant *mn* (fig. 6), mais fonctionnent toutes deux d'une façon complètement indépendante, les deux nervures restant soudées par leur partie commune, c'est-à-dire par la cellule profonde *u* issue de l'initiale Ia et la cellule profonde *v* issue de l'initiale Ib (= I_2 des faux-dichotomistes). Le résultat obtenu est une bifurcation imparfaite analogue à la fig. 4. En effet, dans la fig. 9 où l'initiale Ib a été rejetée de côté, on voit très bien que la nervure formée par cette initiale sera soudée latéralement à celle de l'initiale Ia par les cellules profondes *a* et *d*.

Et réciproquement, dans une bifurcation imparfaite comme celle de la fig. 4, si la nervure de la petite initiale est soudée *latéralement* à la nervure de la grande initiale, c'est que cette dernière a rejeté l'autre de côté.

Il arrive quelquefois, mais rarement, que la petite initiale n'est pas rejetée latéralement ; alors l'initiale *Ia* procède différemment pour devenir normale. Ainsi, dans la fig. 11, l'initiale *Ia* donne d'abord le segment *s* (1) ; et alors la petite initiale *Ib* s'appuie *en partie* sur le mérophyte *m* de l'initiale primitive, mais jamais entièrement ; c'est un cas quelque peu intermédiaire entre la bifurcation parfaite et la bifurcation imparfaite.

Ceci exposé, j'arrive aux Hépatiques à feuilles. La nature est constante dans ses manifestations ; et il n'est pas douteux qu'elle procède avec les autres Hépatiques comme on vient de le voir avec le *Metzgeria* ; d'ailleurs, on peut en donner la preuve par l'observation. Il en est ainsi, non seulement chez les Hépatiques dont l'initiale est à deux faces latérales, mais encore chez celles dont l'initiale est à trois faces (cas le plus commun) et chez celles dont l'initiale est à quatre faces (*Scapania*, *Pleurozia*).

Comme pour le *Metzgeria*, si les deux initiales de la bipartition sont d'égales longueurs, on a une bifurcation parfaite, comme on peut facilement le prouver. Sur la fig. 20, on voit très distinctement que les deux mérophytes latéraux *u* et *u'* sont à peu près d'égale longueur, ce qui n'aurait pas lieu si les deux initiales correspondantes étaient inégales ; on voit en outre que ces deux mérophytes appartenant aux deux branches de la bifurcation s'appuient respectivement sur les deux mérophytes *n* et *n'* de la tige primitive. On voit encore que les deux mérophytes *u* et *u'* (fig. 20), séparés dans leur partie supérieure, se continuent soudés dans leur partie inférieure pour former le haut de la tige simple primitive. Comme un même organe ne peut être issu de deux initiales différentes, ni appartenir à deux organes différents, le mérophyte *u'* appartiendra soit à la tige primitive, soit à la branche gauche. Et comme la partie supérieure du mérophyte *u'* appartient *sûrement* à la branche gauche, il en sera de même pour la partie inférieure ; du côté droit et pour la même raison, le mérophyte *u* tout entier appartiendra à la bran-

(1) DOVIN (Ch.), *Finis falsae dichotomiae* (fig. 1).

che droite. Quant aux mérophytes internes v et v' (fig. 20), ils sont soudés entre eux à leur base et latéralement aux mérophytes voisins u et u' .

On déduit de ce qui précède que *les deux branches de la bifurcation sont soudées à leur base et forment le haut de la tige simple primitive*; les deux branches s'appuient ainsi latéralement sur la tige primitive qu'elles continuent directement. En un mot, les premiers mérophytes des deux branches sont soudés et superposés aux derniers mérophytes de la tige primitive.

Ces mérophytes ont des bases perpendiculaires à la tige sur les tiges dressées; et alors la succession des feuilles et des amphigastres est clairement indiquée par la place de ces organes (fig. 26). Les bases des mérophytes sont d'autant plus obliques que la tige est plus inclinée (fig. 20, 27 et 29); et alors, l'ordre de succession des organes est plus difficile à établir. Ainsi, sur la fig. 13, l'amphigastre ar est né avant les feuilles f et f' qui arrivent plus bas sur la tige; il en est de même sur la fig. 18 pour les amphigastres a_1 et a_2 qui sont nés avant les feuilles voisines descendant beaucoup plus bas en apparence par suite de la grande obliquité des segments.

Et à la limite, comme on dit en mathématiques, si les tiges sont complètement couchées sur le sol, les mérophytes sont insérés longitudinalement comme on le voit sur le *Pellia* et autres Hépatiques à thalle mixte et accidentellement sur quelques Hépatiques à feuilles (1).

Or, d'après le principe a précédent, si les mérophytes à la base des deux branches sont soudés, il en sera de même des deux initiales qui les ont formés et qui provenaient ainsi de la bipartition de l'initiale primitive.

De plus, *les deux branches de la bifurcation parfaite continuent directement toutes deux la tige primitive*, chacune d'elles pour une partie; tantôt les deux branches sont identiques, parce qu'elles proviennent de deux initiales égales et identiques, et l'on a une *bifurcation très parfaite*; tantôt les deux branches sont inégales parce qu'elles proviennent de deux initiales inégales en grosseur, mais qui ne diffèrent pas autrement (fig. 13, 26, 27 et 29); ce sont

(1) DOUIN (Ch.), *La réhabilitation du Fossombronina*, loc. cit., fig. 39, feuilles b et c .

des bifurcations parfaites à branches inégales. D'ailleurs, on peut trouver tous les intermédiaires entre les bifurcations très parfaites et celles très réduites récoltées sur le *C. bicuspidata* au fond du puits de Padirac (Lot) à 60 m. de profondeur. J'y ai vu quelques branches de bifurcation n'ayant que trois files longitudinales de grosses cellules *externes*, correspondant aux trois faces de l'initiale, ce qui n'empêche pas la bifurcation d'être parfaite (1), puisque la branche réduite s'appuie *sur le haut* de la tige-mère.

Mais, si les deux initiales de la bifurcation sont nettement inégales, non pas seulement en largeur comme dans les bifurcations précédentes, mais *surtout en longueur*, on a des bifurcations bien différentes que j'appelle *imparfaites*. Ici, on ne peut voir le phénomène aussi nettement que chez le *Melzgeria* en raison de l'opacité des tissus, mais on peut le reconnaître par les premiers segments ou mérophytes de la petite initiale qui sont forcément *plus petits et moins longs* que leurs voisins de la grande initiale (Comparez les segments *m* et *n* (fig. 39 et 41) et surtout *parce qu'ils se juxtaposent latéralement le long de la tige principale et qu'ils ne s'appuient aucunement sur elle*; ou, ce qui est la même chose, les premiers mérophytes de la ramification ou de la petite branche rejetée de côté *sont soudés latéralement aux derniers* (2) *mérophytes de la tige primitive* et se trouvent pour ainsi dire en dehors de cette tige *n* (fig. 41). Mais là encore, comme ces deux sortes de mérophytes sont soudés, *les initiales qui les ont donnés (principe a) étaient aussi soudées* et provenaient de la bipartition de l'initiale primitive.

L'arrachement de la branche latérale, comme il sera indiqué plus loin, justifie bien que la petite initiale *Ib* (fig. 34) a bien été rejetée de côté comme le montre la fig. 25. Le fait que la petite branche ou la ramification a été rejetée au bord latéral *prouve aussi qu'il en a été de même pour l'initiale qui l'a formée*, puisque celle-ci a occupé la pointe de *n* (fig. 41 et 42).

Parmi les diverses sortes de bifurcations dont il va être question, je me contenterai seulement de signaler les bifurcations rudimen-

(1) Autrefois, je considérais les bifurcations parfaites à branches inégales comme des bifurcations imparfaites; des observations plus précises m'ont fait reconnaître mon erreur.

(2) A chaque ramification, la tige principale change d'initiale en sorte que ce n'est plus la même tige malgré l'apparence contraire. L'initiale qui finit donne *ses derniers mérophytes* dont il est question dans le texte ci-dessus.

taires toujours imparfaites. J'appelle ainsi les bifurcations dont les deux branches *ne se séparent pas* l'une de l'autre. La petite branche n'est composée que d'un ou deux segments qui restent entièrement soudés à la branche principale. C'est ce que l'on voit accidentellement chez diverses Hépatiques (*Pellia*, *Metzgeria*, *Blasia*) et normalement chez le *Fossombronia* et le *Riella* (loc. cit.).

Il existe deux sortes de bifurcations imparfaites, semblables en apparence, mais pourtant bien différentes. Quand l'initiale principale (1) se divise en deux initiales, *on a une bifurcation principale!* si les deux initiales sont de même longueur, on a *une bifurcation principale et parfaite*; si les deux initiales sont nettement inégales en longueur, on a *une bifurcation principale et imparfaite* (*Madotheca*).

Enfin, il existe une autre sorte de bifurcation bien différente des précédentes, c'est quand les deux initiales ne sont ni de même valeur, ni de même nature (*Frullania*, *Lepidozia*) : l'une est l'initiale principale de la tige-mère *qui ne se divise pas en deux initiales* comme ci-dessus et ne donne que des segments latéraux (ou initiales secondaires); et l'autre est une initiale secondaire (ou une partie d'initiale secondaire divisée en deux ou plusieurs autres), c'est-à-dire un segment *qui vient de se détacher de l'initiale principale*. Cette sorte de bifurcation correspond à l'Endverzweigung de Leitgeb : c'est ce que j'appelle *une bifurcation secondaire et imparfaite*. D'ailleurs, toutes les bifurcations secondaires sont imparfaites et montrent à leur base la partie en biseau *n* (fig. 42) et *v* (fig. 34), caractéristique des bifurcations imparfaites.

Les bifurcations secondaires présentent ce caractère spécial que *la tige principale* de ces bifurcations *est formée d'un bout à l'autre par une seule et même initiale*, tandis que chez les bifurcations principales et imparfaites, la tige principale est formée par une suite d'initiales principales issues les unes des autres et changeant à chaque ramification.

Quoi qu'il en soit, dans les bifurcations secondaires et impar-

(1) L'initiale de la tige principale peut s'appeler indifféremment *initiale principale*, *initiale-mère*, *initiale caulinare*, *initiale primitive*; l'initiale de la petite branche rejetée de côté (ou ramification) est l'*initiale de la ramification*. Toutes deux sont des initiales terminales.

faites, comme dans toutes les autres, à leur début, il y a des mérophytes soudés *issus de deux* initiales soudées.

Pour terminer ce chapitre, je vais indiquer quelques caractères simples permettant de reconnaître facilement les différentes sortes de bifurcations et presque à première vue.

1° Lorsqu'on examine attentivement, chez le *Lophocolea* ou l'*Alicularia* (fig. 13 et 20), chez le *Madotheca* ou le *Lepidozia* (fig. 35 et 39), le haut de la tige simple primitive formé par les deux branches soudées de la bifurcation, on voit généralement que la tige immédiatement au-dessous de la séparation des deux branches est *notablement plus large* que cette même tige plus bas et que chacune des deux branches plus haut.

Cet élargissement ne peut avoir lieu que si les segments de l'une des initiales viennent s'ajouter latéralement à ceux de l'autre initiale. Mais ces deux sortes de segments sont soudés ; et, d'après le principe *a*, les initiales qui les ont donnés l'étaient aussi. C'est vrai également quand les deux branches sont égales comme dans les bifurcations parfaites. *Cette soudure des deux branches au haut de la tige est l'un des caractères essentiels de toute bifurcation*. Et, si dans les bifurcations imparfaites, l'une des deux branches se trouve rejetée latéralement, c'est en vertu du droit du plus fort ; la petite initiale et sa ramification sont obligées de céder la place à la grande initiale qui continue seule la tige primitive. Il n'en est plus de même chez les bifurcations parfaites où *les deux branches s'appuient toutes deux sur la tige primitive et la continuent toutes deux* (caractère des bifurcations parfaites).

2° Une autre preuve de la bifurcation est donnée par les files longitudinales de cellules qui se continuent du haut de la tige simple primitive sur les deux branches qui suivent (fig. 8, 13, 20, 39 et 41), annonçant ainsi que ces files de cellules de chaque côté de la tige appartiennent à un même mérophyte, à une même initiale qui est toujours celui ou celle de la branche correspondante, comme on peut facilement le démontrer. On voit (fig. 13) que le mérophyte de l'amphigastre *an* s'étend de ce dernier à l'amphigastre *ar* ; de même le mérophyte de l'amphigastre *an'* s'étend aussi jusqu'à l'amphigastre *ar* de la tige principale. Ces mérophytes soudés suivant *rv* appartiennent aux deux branches de la bifurcation qui sont

ainsi soudées suivant *vr* et forment le haut de la tige simple primitive, caractère essentiel de toute bifurcation.

3° On reconnaît encore l'existence d'une bifurcation en voyant les deux feuilles *f* et *f'* (fig. 8, 13; 27 et 29) du haut de la tige simple primitive s'étendre, non seulement sur cette dernière, mais encore sur les deux branches situées au-dessus. Si l'on fait le même raisonnement que ci-dessus, chacune de ces deux feuilles ne pouvant appartenir à la fois à deux organes différents, appartiendra soit à la tige, soit à l'une des deux branches. Dans les fig. 8, 13 et 27, comme la partie supérieure des feuilles *f* et *f'* appartient sûrement aux deux branches, il sera de même pour les feuilles tout entières. Les deux branches seront soudées et formeront le haut de la tige simple primitive, caractère essentiel de toute bifurcation.

4° Un quatrième cas montre une feuille insérée longitudinalement sur la partie médiane de la tige simple primitive *abc* (fig. 29). La feuille insérée en *ab* appartient forcément à la branche B et il en est de même pour la feuille tout entière; mais la partie *m* située à gauche de l'insertion *bc* de la feuille *d* appartient indiscutablement à la branche C. Il y a donc encore ici deux branches soudées à leur base, c'est-à-dire une bifurcation.

5° Un caractère convenant spécialement aux bifurcations imparfaites est fourni par l'expérience suivante : si l'on exerce une traction sur la ramification du côté de la base de la tige primitive, cette ramification entraîne avec elle une partie de tige *n* (fig. 39 et 41) en biseau détachée de la tige primitive et représentant *ce qui lui appartient* dans la partie du haut de la tige commune aux deux branches; c'est ce que montrent les trois fig. 33, 34 et 38. Une traction en sens contraire, — et il faut alors une bien plus grande force, — n'arrive qu'à casser la ramification au-dessus de sa base soudée en *mn* (fig. 33). Ceci prouve incontestablement que ce n'est pas un rameau, attendu que la ramification se rattache en dessus à la tige principale d'une autre manière qu'en dessous, tandis que, s'il s'agit d'un rameau, celui-ci se détache très facilement et *tout autour de sa base*, comme le montre son mode de formation. On a vu plus haut que la cause intime de cet arrachement en biseau dans les bifurcations imparfaites est due à la petite initiale rejetée de côté avec ses premiers segments.

6° Les bifurcations secondaires et imparfaites se reconnaissent,

comme on l'a vu, à la présence d'une feuille bilobée sur leur base en biseau et à l'absence de lobe ventral sur la feuille qui se trouve à la base de la ramification (voy. la partie II).

Et 7° un cas évident de bifurcation et qui n'est pas rare, mais spécial aux tiges pourvues d'amphigastres, est celui où l'on voit, sur le haut de la tige simple primitive, *deux amphigastres voisins et juxtaposés*, au moins par leurs décurrences caulinaires a_1 et a_2 (fig. 18). Ce n'est évidemment possible que si, dans la région où l'on voit ces deux amphigastres voisins, il y a deux tiges ou deux branches soudées, c'est-à-dire une bifurcation (*Lophocolea cuspidata* Limpr., *Chiloscyphus polyanthus* Corda). On peut en déduire une autre conséquence : sur la fig. 18, le mérophyte de l'amphigastre a_1 descend jusqu'à l'amphigastre a ; de même le mérophyte de l'amphigastre a_2 s'étend aussi jusqu'à l'amphigastre a . Cette condition ne peut être remplie que si la bipartition de l'initiale se fait perpendiculairement à la face ventrale de l'initiale suivant *ucd* (fig. 24) ou perpendiculairement à l'insertion des amphigastres.

En résumé, les divers cas de bifurcation se ramènent tous à *deux branches soudées formant le haut de la tige simple primitive*, ce qui résulte du fonctionnement de deux initiales soudées, puisque la soudure par le contact n'existe pas.

Pour terminer, je vais donner un caractère important des bifurcations, mais passant inaperçu chez les Hépatiques à feuilles (1). Sur les branches des bifurcations, la disposition des feuilles et des amphigastres (quand il y en a) est identique à celle de la tige-mère, puisque *les deux sortes d'organes sont disposés dans un même plan* (ramifications distiques des auteurs). Ceci ne peut être réalisé que si la bipartition de l'initiale primitive se fait à peu près perpendiculairement à l'insertion des amphigastres, comme on le voit en *xy* (fig. 17) et en *mn* (fig. 43). C'est précisément ce qui fait que, chez les Hépatiques, les branches rejetées latéralement sont toujours plus ou moins distiques, c'est-à-dire à droite et à gauche de la bande longitudinale de tige qui porte les amphigastres.

(1) Ce caractère n'existe pas toujours dans quelques rares genres (*Fossombronia*, *Riella*) où la bipartition de l'initiale peut avoir lieu dans tous les sens.

II. — PARTIE SPÉCIALE

Dans cette seconde partie, je vais examiner divers exemples de toutes les sortes de bifurcations, passer en revue leurs particularités et montrer comment elles s'accordent (ou non) avec les hypothèses des auteurs.

a) Bifurcations principales et parfaites à branches inégales (1)

1. *ALICULARIA SCALARIS* Corda

Les fig. 18 et 20 représentent une tige bifurquée de l'*Alicularia scalaris* vue sur ses deux faces. Les mérophytes a_2 a et a_1 a placés côte à côte sous le milieu du dessous de la tige simple primitive, montrent indiscutablement que les deux branches de la bifurcation sont soudées pour former le haut de cette tige simple. On voit aussi que l'Endverzweigung de Leitgeb n'existe pas ici, puisque les feuilles et les amphigastres *se succèdent régulièrement et sans interruption avec leur grandeur normale*; ce n'est pas davantage l'*Interkalare Verzweigung*, puisque les deux branches *sont terminales et nullement situées au-dessous du milieu d'une feuille* de la tige primitive, comme ce serait le cas dans l'hypothèse de Leitgeb. Il y a dans ces figures une bifurcation parfaite.

On remarque, sur les fig. 18 et 20, deux irrégularités qu'il me faut interpréter. La première est que les feuilles sont çà et là émarginées, particularité qui trahit leur forme originelle à deux lobes; c'est ce que l'on voit d'ailleurs sur la plupart des Hépatiques à feuilles rondes : *P. asplenioides* Dum., *Ch. Polyanthus* Corda, *Haplozia*, etc.

La deuxième irrégularité est relative à l'amphigastre bilobé a_2 au lieu d'être à un seul lobe. Ces deux formes sont dues à la même cause, à la segmentation de l'initiale. On sait que lorsqu'un segment rencontre deux arêtes il donne naissance à une feuille bilobée (2);

(1) DOUIN (Ch.), *Les bifurcations principales et parfaites à branches égales* ou à peu près chez le *Cephalozia bicuspidata* Dum., Rev. bryol., 1930, p. 123. C'est dans cette note que j'ai indiqué la cause qui fait que les feuilles ont 1 ou 2 lobes.

(2) DOUIN (Ch.), *Les bifurcations principales et parfaites*, loc. cit., p. 123.

au contraire, si le segment ne rencontre aucune arête ou une seule, la feuille n'a qu'un seul lobe. Les fig. 19 et 23 rendent parfaitement compte des deux formes a_1 et a_2 des amphigastres. Normalement, les amphigastres sont à un seul lobe lorsque le segment a (fig. 23) ne rencontre aucune arête, ce que justifie la séparation habituelle de l'amphigastre et de la feuille voisine ; au contraire, si la segmentation se fait comme dans la fig. 19, l'amphigastre est à deux lobes parce que le segment a rencontre deux arêtes.

2. *LOPHOCOLEA CUSPIDATA* Limp.

Sur la fig. 13, à première vue, on pourrait soutenir que les conditions exigées par l'Endverzweigung sont remplies par la feuille f' à une seule pointe ; mais cette feuille, la plus rapprochée de la ramification, est aussi large que la feuille opposée f , tandis qu'elle devrait être beaucoup plus étroite. De plus, la branche devrait être à côté de l'insertion de la feuille f' , tandis qu'elle est au-dessus et qu'elle porte une partie de cette insertion en ei , ce qui veut dire que la feuille f' appartient à la branche C, conditions tout à fait inconciliables avec l'Endverzweigung et qui excluent cette hypothèse sans discussion possible. La forme de la feuille à une pointe f' est due à une autre cause, comme celle de la feuille t voisine qui est **tout entière insérée sur la branche C**. D'ailleurs, de telles feuilles à une pointe peuvent se rencontrer accidentellement sur les tiges *non ramifiées*, ce qui prouve que la ramification n'y est pour rien. Il me reste à indiquer les divisions de l'initiale qui ont donné la bifurcation (fig. 13) ainsi que les feuilles f' et t .

Soit (fig. 17) la base externe de l'initiale primitive ; celle-ci a donné le segment ar de l'amphigastre et ceux f et f' des feuilles voisines. La feuille f' n'a qu'une pointe parce qu'elle est issue d'un segment ne rencontrant que l'arête 1. Alors l'initiale de la tige primitive s'est divisée en deux initiales de même longueur ou à peu près suivant xy . L'initiale Ia a donné les trois segments normaux am , t_1 et f_1 pendant que l'initiale Ib donnait les trois segments an , t et f'_1 . Le segment t qui ne rencontre qu'une seule arête a donné une feuille à une seule pointe. Il a pour but de donner à l'initiale Ib la forme normale habituelle, c'est-à-dire avec une base externe triangulaire. Mais, dira-t-on, pourquoi la feuille f' est-elle à une seule pointe ? J'avoue mon ignorance à ce sujet, à moins que ce ne soit

une fausse manœuvre de l'initiale primitive que l'initiale *Ib* a réparée en donnant le segment *t*. Ce fait ne me semble pas rare ; j'ai vu une fois et dessiné un rameau du *Ch. polyanthus* ayant à sa base douze feuilles irrégulières précédant les feuilles et amphigastres normaux.

Enfin, sur la fig. 13, les amphigastres ont 3-4 lobes très longs et soudés seulement à leur base ; l'explication de ces lobes est la même que celle qui sera donnée plus loin pour les feuilles et les amphigastres du *Lepidozia*.

3. *GYMNOCOLEA INFLATA* Dum. et *PEDINOPHYLLUM INTERRUPTUM* Pears.

Les deux bifurcations (fig. 26 et 27) diffèrent à peine d'une bifurcation très parfaite ; elles montrent toutes deux, à la base de la petite branche une feuille à un seul lobe *arrondi* et insérée transversalement sur la partie dorsale de la petite branche (fig. 26) ou sur sa partie ventrale (fig. 27) ; c'est une feuille irrégulière qui peut s'expliquer très simplement avec le schéma (fig. 32) correspondant à la fig. 26 et le schéma (fig. 31) correspondant à la fig. 27. L'initiale s'est divisée en deux autres : l'une normale *Ia* ; l'autre *Ib* a d'abord détaché le segment *s* correspondant à la feuille irrégulière *f* pour devenir normale. On retrouve cette feuille irrégulière assez généralement et en particulier chez le *Mastigobryum tricrenatum* Nees où elle a deux lobes.

On ne peut pas soutenir ici qu'il y a l'Endverzweigung, puisque la feuille irrégulière *f* est assez loin au-dessus de la branche au lieu d'être à côté.

b) Bifurcations principales et imparfaites.

Les bifurcations de ce groupe sont principales parce qu'elles sont issues de la bipartition de l'initiale principale ; de plus, elles sont imparfaites, puisque la petite branche est complètement rejetée de côté, asymétrique et ne s'appuie nullement sur la tige primitive.

MADOTHECA

Chez le *Madotheca* (1) : « Alle Aeste entspringen an Stelle eines Blattunterlappens ». Si cette affirmation était exacte, il faudrait :

(1) MÜLLER (K.), *Die Lebermoose*, loc. cit. II, p. 555.

1° que la feuille du segment qui donne la ramification *n'ait pas de lobule ventral*; et 2° que la base de cette ramification *naisse à la place qu'aurait occupée ce lobule*. L'observation montre *incontestablement* que ces deux conditions ne sont pas remplies chez le *Madotheca*. Malgré de nombreuses recherches sur le *M. laevigata* Dum., le *M. platyphylla* Dum. et le *M. rivularis* Nees de diverses provenances, je n'ai pu voir aucune ramification tenant la place d'un lobule foliaire ventral et de sa décurrence caulinaire. Toutes les feuilles, même celles voisines des ramifications latérales sont *normales et complètes*, c'est-à-dire composées de leurs deux lobes dorsal et ventral. La feuille *cd* (fig. 35), la plus rapprochée de la ramification, est à deux lobes comme les autres; et même *son lobule est souvent bilobé et plus large que celui des feuilles ordinaires*. La ramification naît toujours plus ou moins au-dessus de l'insertion d'une feuille (même fig.) sur la bande longitudinale de tige où se juxtaposent les deux lobes foliaires d'une même série latérale de feuilles. Il n'y a donc pas d'Endverzweigung chez le *Madotheca*. Si on enlève le lobule *d*, on voit que les files longitudinales de cellules de la ramification *se continuent sur la partie de la tige simple primitive située au-dessous*, ce qui est un caractère de bifurcation; ou autrement dit, l'initiale primitive a été divisée en deux autres initiales: la grande initiale ou *initiale caulinaire qui continue la tige primitive* et la petite initiale qui forme la ramification rejetée latéralement. De plus, les deux branches de chaque ramification sont à peu près identiques; seule, la ramification présente assez souvent à sa base une petite irrégularité: c'est *une feuille à deux lobes parfois longuement soudés uu* (fig. 33), au lieu d'être *séparés* comme dans toutes les feuilles normales, caractère qui sera expliqué plus loin avec le lobule lobulé. Inutile de dire que l'Endverzweigung est incapable de le faire.

Maintenant, il me faut trouver le mode de bipartition de l'initiale qui réalise bien ces conditions; et pour cela il est indispensable de connaître la forme de l'initiale et son mode de segmentation, *ce qui exige un examen attentif de l'insertion des feuilles et des amphigastres, ces organes étant solidaires des segments qui entourent l'initiale*. Les grands lobes dorsaux ont des insertions un peu superposées à droite et à gauche du milieu de la tige, comme on le voit sur la fig. 40 du *Lepidozia*; il en sera de même des segments *a* et *c*, *a'* et *c'*

(fig. 43) qui les ont donnés. Les amphigastres et les lobules ont des insertions juxtaposées latéralement et sont indépendants les uns des autres; leurs segments *b* et *ar*, *ar* et *d* (fig. 43) seront aussi juxtaposés latéralement. Enfin, si on examine l'insertion d'une feuille du *Madotheca*, telle que la comprennent les auteurs *a* et *b* (fig. 35) on a la ligne brisée *cba-ade* (fig. 14 et 15) formant deux courbes (fig. 16) *non juxtaposées bout à bout à leurs extrémités*. Il est évident qu'une telle ligne ne peut pas être issue d'un segment unique; par suite, chacune de ces deux parties *cba* et *ade* proviendra d'un segment spécial; de plus, les deux segments *a* et *b* (fig. 43) sont plus ou moins condupliqués comme les feuilles *ab* et *a'b'* (fig. 35). La fig. 43 qui représente la base libre de l'initiale du *Madotheca* correspond donc exactement à toutes les conditions précédentes; et par suite, l'initiale du *Madotheca* a, en réalité, *cinq faces latérales correspondant aux cinq rangées de feuilles*, comme l'avait bien vu SCHIFFNER dans ses *Hepaticae* (Pflanzenfamilien). Comme les segments latéraux *a* et *b*, *c* et *d* sont d'une constance remarquable, chacun d'eux sera un segment de premier ordre ou une initiale secondaire issue de l'initiale terminale qui a donc bien la forme des fig. 43 et 44.

La segmentation de l'initiale du *Madotheca* se fera ainsi : d'un côté, elle donnera *presque simultanément* un segment dorsal et un segment ventral; autrement, les deux lobes ne seraient pas juxtaposés à leur base. Ensuite, et aussi presque simultanément l'initiale donnera de l'autre côté un autre segment dorsal et un autre segment ventral; enfin, il restera le cinquième segment, celui de l'amphigastre, sous le milieu de la tige qui se développera le dernier. Le fait que les grands lobes dorsaux ont des insertions en Δ (V renversé) justifie (1) cette succession des segments de l'initiale. D'ailleurs, cette succession est confirmée par l'observation, puisque à la base des ramifications (fig. 33 et 35) l'amphigastre ne se montre qu'après deux feuilles à deux lobes des auteurs.

Les segments *a* et *b* (fig. 43) donneront respectivement le grand lobe *a* et le petit lobe *b* (fig. 35); de même les segments *c* et *d* donneront le grand lobe *a'* et le petit lobe *b'*; le segment ventral formera l'amphigastre *ar*. Le tout, segments et feuilles ci-dessus correspond

(1) DOUIN (Ch.), *La théorie des initiales chez les Hépatiques à feuilles*, loc. cit., p. 569.

à une série de segmentations ou de segments de l'initiale. La bipartition de l'initiale, prélude de la bifurcation, se fera suivant *mn* (fig. 43) en donnant une petite initiale *Ib* (= *mni*) à peu près triangulaire qui prendra très vite en s'accroissant la forme normale à cinq faces latérales de l'initiale-mère. Comme la segmentation commence par les segments internes et latéraux *u* et *v* (fig. 43), il arrive assez souvent que cette initiale *Ib* n'a pas eu le temps de prendre cette forme normale ; c'est alors que le segment *u* donne une feuille bilobée *uu* (fig. 33), comme il a été dit à propos du *C. bicuspidata* (1). En effet, le segment *u* (fig. 43) rencontrant deux arêtes de l'initiale *mni* donnera une feuille à deux lobes. C'est exactement pour les mêmes raisons que le segment *v* (fig. 43) de l'initiale *Ia* donnera aussi un lobule à deux lobes, ce segment *v* à sa naissance rencontrant aussi deux arêtes. Mais bientôt la grande initiale *Ia* en s'accroissant aura repoussé la petite initiale *Ib* au bord latéral et sera venue se placer exactement au-dessus de l'initiale-mère primitive avec les côtés de la base externe égaux et parallèles deux à deux : c'est ce qui explique la continuité apparente de la tige primitive et la succession régulière et constante des feuilles et des amphigastres qui n'aurait pas lieu sans cela.

Un dernier caractère : dans les bifurcations principales et imparfaites, la tige principale est de fait nettement continue et paraît formée par une seule et même initiale ; mais ce n'est qu'une apparence due à ce fait que la grande initiale rejette la petite latéralement, exactement comme dans les bifurcations imparfaites du *M. furcata*.

On voit, sur la fig. 43, qu'une coupe suivant *xy* qui rencontrerait les deux initiales avec leurs premiers segments *u* et *v* donnerait une figure analogue à celle (fig. 12) de la fausse-dichotomie des auteurs.

En résumé, les ramifications latérales du *Madotheca* ne sont pas des rameaux, mais des branches de bifurcations rejetées de côté ; elles correspondent exactement aux caractères que les auteurs attribuent à leur fausse-dichotomie et qu'ils auraient dû reconnaître ; mais elles ne se rapportent pas plus à cette dernière qu'aux deux hypothèses de Leitgeb, puisqu'elles sont formées par les petites branches rejetées de côté à la suite des bipartitions de l'initiale principale.

(1) DOVIN (Ch.), *Les bifurcations principales*. loc. cit., p. 129.

Cette dernière se divise en deux initiales très inégales qui donnent deux branches soudées à leur début et formant le haut de la tige simple primitive. C'est d'ailleurs facile à vérifier sur un échantillon à feuilles espacées du *Madotheca* par les divers moyens mentionnés dans la première partie. J'ai déjà donné de lui des files longitudinales de cellules se continuant de la tige simple sur les ramifications. La fig. 33 avec sa base en biseau *v* arrachée latéralement de la tige principale en est une autre. En voici une troisième. Le mérophyte du lobule *d* (fig. 35) et celui de l'amphigastre *ar* sont juxtaposés et soudés, comme le prouvent leurs décurrences caulinaires juxtaposées et soudées le long d'une même ligne longitudinale de cellules de la tige (*mn*, en pointillé fig. 35); et, d'après le principe *a*, les initiales qui ont donné ces deux organes étaient soudées.

Une autre preuve que les trois hypothèses des auteurs *n'ont rien à voir ici*, c'est qu'elles sont toutes incapables d'expliquer ni la feuille bilobée *uu* (fig. 33) ni le lobule lobulé *d* (fig. 35). Quant à la dénomination *Endverzweigung* (= ramification terminale), elle n'est pas très précise dans l'hypothèse de Leitgeb, puisque cette ramification naîtrait *au-dessous de l'initiale*, de la moitié inférieure d'un segment détaché de celle-ci; mais elle est exacte *pour les branches* de bifurcation du *Madotheca*.

Le *Radula*, qui possède une initiale à deux faces puisqu'il n'a pas d'amphigastres, se ramifie exactement comme le *Madotheca*; et dans ce genre, les deux branches de la bifurcation (à part la grandeur) sont complètement identiques; cela vient de ce que les deux initiales issues de la bipartition de l'initiale primitive deviennent presque immédiatement semblables à cette dernière, n'ayant à subir qu'un accroissement du côté interne (fig. 45); c'est ce que montre le schéma où l'initiale *Ia* devient *Ia'* pendant que l'initiale *Ib* devient *Ib'*. Ce n'est ni l'*Endverzweigung*, ni l'*Interkalare Verzweigung*, ni la fausse-dichotomie, puisqu'on n'y trouve aucun des caractères appartenant à ces hypothèses et il n'y a pas de rameaux sortant de l'intérieur de la tige.

Les ramifications du *Radula* naissent bien ça et là immédiatement au-dessous de l'insertion des feuilles, comme chez le *Lejeunea*, mais les deux cas sont fort différents. Dans le *Lejeunea*, les rameaux, d'origine interne (1), soulèvent la surface de la tige, et percent le

(1) DOUIN (Ch.), *Les rameaux des Muscinées*, loc. cit.

sommet de la saillie pour se faire jour au dehors, tandis que chez le *Radula*, les ramifications sont des branches de bifurcation rejetées de côté et d'origine externe avec des files longitudinales de cellules *qui se continuent de la surface de la tige principale sur la branche latérale* correspondante.

c) Bifurcations secondaires et imparfaites.

Ce sont, comme on l'a vu, des bifurcations formées par deux initiales de nature différente : l'initiale principale et une initiale secondaire qui vient de s'en détacher. Il n'y a pas de bifurcations parfaites dans ce groupe, malgré parfois l'apparence contraire (fig. 37).

1. FRULLANIA

Voici comment MÜLLER caractérise les bifurcations du *Frullania* (1) dans sa flore : « *Aeste entspringen seitlich aus der hinteren Segmenthälfte eines Seitensegmentes* » ; et il ajoute : « *Der Art steht demnach wie bei Madotheca an Stelle der Blattunterlappens* ». On a vu plus haut que ces caractères sont complètement faux pour le *Madotheca* ; par contre, ils sont à peu près exacts pour le *Frullania*. Examinée attentivement la base d'une ramification de ce dernier genre (fig. 34 et 41) montre toujours que la feuille à la base de la ramification est dépourvue de lobule et de stylet ; en échange, on y voit *une feuille bilobée u*, complètement différente des autres et semblant insérée sur la tige principale, feuille que l'Endverzweigung, telle qu'elle est caractérisée, est impuissante à expliquer ; c'est ce qui montre que l'Endverzweigung a besoin d'être complétée et précisée. *Cette feuille bilobée n'appartient pas à la tige principale*, comme on pourrait le supposer à première vue ; elle n'est pas l'équivalent du lobule et du stylet absents en cet endroit. La constance de cette feuille bilobée *u* à la base de chaque ramification atteste sa solidarité avec celle-ci et prouve qu'elle lui appartient et non à la tige principale. De plus, la ramification, arrachée comme il a été dit dans la première partie, porte cette feuille *u* sur sa base en biseau *v* (fig. 34) qui était soudée à la tige principale. On en déduit en outre

(1) MÜLLER (K.), *Die Lebermoose*, loc. cit., p. 603.

qu'il y a bien là une bifurcation, puisque la ramification possède une partie arrachée de la tige principale à laquelle elle était soudée et qu'il est facile d'établir qu'il y a là deux initiales soudées.

Dans la fig. 37, la feuille irrégulière *u* et l'amphigastre *ar* sont exactement tangents, comme le prouvent les files longitudinales de cellules de leurs bases décurrentes *c* et *d* (fig. 36) qui sont soudées. Ce n'est possible (principe *a*) que si les deux initiales qui ont donné les deux organes soudés (amphigastre *ar* de la tige principale et feuille irrégulière *u* de la ramification) étaient soudées. Il résulte de là que la ramification *R* et la tige *T* (fig. 37) sont les deux branches d'une même bifurcation. Dans cette dernière figure, sans la feuille basilaire et irrégulière *u*, on dirait une bifurcation parfaite; cela provient très probablement de ce que le segment détaché (ou initiale secondaire) était à peu près aussi grand que le reste de l'initiale principale. Dans la fig. 41, la ramification est fortement rejetée de côté (cas normal) et sa base en biseau *n* est à peu près complètement en dehors de la tige. En voici la raison : la tige ou branche principale ne subit aucun changement dans sa formation, car son initiale ne se divise pas en deux autres comme chez le *Madotheca*. Rien ne vient modifier son fonctionnement qui reste le même que sur une tige non ramifiée, attendu que la ramification est formée par une initiale secondaire rejetée latéralement dès sa naissance par l'initiale principale ou initiale caulinaire; et par suite, cette ramification est complètement en dehors de la tige principale et nullement appuyée dessus comme dans les bifurcations parfaites. On a vu plus haut que c'était un des caractères essentiels des bifurcations secondaires.

Ainsi, chez le *Frullania*, la bifurcation est produite par deux initiales d'inégale valeur : l'initiale principale ou initiale de la tige primitive qui continue à allonger cette dernière en rejetant de côté une initiale secondaire qui vient de s'en détacher et qui donne la ramification : de là le nom de *bifurcations secondaires et imparfaites* donné à cette sorte de bifurcation. La fig. 37 où la ramification est aussi forte que la branche principale est exceptionnelle. On voit ici une différence capitale entre les bifurcations principales imparfaites et les bifurcations secondaires imparfaites. Dans les premières, la tige est formée par une suite d'initiales changeant à chaque ramification et issues les unes des autres par des bipartitions (*Madotheca*)

tandis que chez les secondes, *c'est la même initiale exclusivement qui produit la tige principale d'un bout à l'autre.*

L'erreur principale de LEITGEB dans son Endverzweigung est d'avoir considéré les ramifications latérales comme des organes *indépendants* au lieu de les rattacher à la tige principale avec laquelle elles forment des bifurcations. Ce n'est exact que pour l'Interkalare Verzweigung qui dans sa pensée s'appliquait à ce que j'appelle les rameaux ventraux.

Les feuilles du *Frullania* sont en réalité peu différentes de celles du *Madotheca*. Il y a latéralement sur la tige, pour chaque feuille des auteurs, trois lobes distincts souvent séparés jusqu'à leur base : le grand lobe dorsal, le lobe moyen à peu près latéral et le petit lobe entièrement ventral que sa forme aiguë a fait nommer le stylet (1). La base d'une ramification occupe la place du lobe moyen et du stylet, ce qui s'accorde bien avec l'Endverzweigung ; mais son interprétation, un peu trop simpliste est insuffisante et non justifiée pleinement, *puisqu'elle n'explique pas la présence constante de la feuille irrégulière et à deux lobes de la base des ramifications u* (fig. 34 et 41).

L'initiale caulinaire du *Frullania* possède aussi la forme plus ou moins pentagonale et à cinq faces latérales du *Madotheca*, comme on peut l'établir facilement et de la même façon par les insertions des feuilles et des amphigastres. Cette méthode donne les segments latéraux et plus ou moins condupliques des feuilles *dbc* et *d'b'c'* (fig. 46) et de l'amphigastre *ar*. Dans le cas particulier de la ramification, l'initiale secondaire primitive (ou segment de premier ordre) se divise en deux initiales secondaires : l'une *d* (fig. 46) donne le grand lobe dorsal *c* (fig. 41) et l'autre latéro-ventrale qui occupe la place des segments *b* et *c* (fig. 46), c'est-à-dire du lobule et du stylet. Cette initiale, à base externe et libre, fonctionne presque de suite comme une initiale caulinaire, c'est-à-dire après avoir donné le segment irrégulier *u* (fig. 47) producteur de la feuille irrégulière *u* (fig. 34 et 41). Comme on le voit, cette initiale de la ramification se différencie presque immédiatement en initiale caulinaire, puisque

(1) Dans le *Frullania*, les trois parties de la feuille ayant leurs insertions placées bout à bout et parfois soudées à leur base, on peut considérer le grand lobe, le petit lobe et le stylet comme formant une feuille unique, quoique ces trois parties soient communément séparées jusqu'à la tige.

les feuilles et les amphigastres de cette ramification sont, à la suite de la feuille *u* identiques aux mêmes organes de la tige principale. Pour atteindre ce résultat, l'initiale *eiosvè* (fig. 47) n'a guère qu'à donner le segment *u*, comme le montre la même figure. L'initiale obtenue donne alors trois segments *m*, *f* et *d* et devient *Ib'* qui est à peu près normale. En comparant la fig. 47 avec la fig. 41, on peut constater que cette interprétation est en accord complet avec l'observation.

Le segment *u* donne une f. bilobée comme chez le *Madotheca*, puisqu'il contient les deux arêtes *o* et *s* de l'initiale secondaire *eiosve* (fig. 47). Ce segment *u* se trouve juxtaposé au segment de l'amphigastre *ar*, comme la feuille *u* est juxtaposée à l'amphigastre *ar* (fig. 37) ou à sa décurrence caulinare *n* (fig. 41). Dans cette dernière figure, la feuille *u* se trouve à la fois au-dessous de la feuille *f* et de l'amphigastre *d* comme dans le schéma (fig. 47) où le segment *u* né le premier se trouve forcément au-dessous des segments de la ramification nés après lui.

Une dernière remarque pour terminer : une coupe suivant *xy* (fig. 47) donnerait une figure semblable à la fig. 12 de la fausse-dichotomie.

Une feuille à deux lobes aigus située à la fois au-dessous des amphigastres et d'une rangée de feuilles se voit aussi très distinctement à la base des ramifications du *M. tricrenatum* pour la même raison que chez le *Frullania*.

2. LEPIDOZIA

A propos du *Lepidozia* (s.l.) et d'après LEITGEB et EVANS, MÜLLER écrit (1) : « *Aeste entspringen meist seitlich und zwar entweder aus der ventralen Segmenthälfte, oder bei Microlepidozia auch aus der dorsalen Hälfte* ». Il y a, dans ce qui précède, deux modes de ramifications à peine différents. Dans le premier, concernant les *Lepidozia* proprement dits, la ramification s'échappe de la moitié (ou à peu près) ventrale d'un segment latéral, exactement comme chez le *Frullania* ; mais là aussi cette hypothèse n'explique pas la feuille irrégulière *u* (fig. 38) de la base des ramifications pourtant bien figurée par MULLER (2) dans sa flore.

(1) MÜLLER (K.), *Die Lebermoose*, loc. cit. II, p. 273.

(2) MÜLLER (K.), *Die Lebermoose*, loc. cit., p. 276 a (fig. 83) à la base des deux ramifications.

Quand au second mode de ramification dû à EVANS (fide MÜLLER) et affirmant que la ramification peut s'échapper de la moitié dorsale d'un segment latéral, elle est fort exacte, comme j'ai pu le vérifier sur la var. *sertularioides* L. du *L. setacea* Mitt. Pour cela, il suffit de supposer que c'est l'initiale secondaire dorsale qui donne la ramification et que les autres initiales secondaires du même segment de premier ordre donnent les feuilles latérales et ventrales (lobes de la feuille des auteurs). En ce qui concerne le schéma donné par EVANS (1), d'après LEITGEB, il n'a rien d'exact. Si l'initiale donnait les trois segments figurés, il y aurait à la base de la ramification trois feuilles spéciales à deux lobes formant autour d'elle un véritable involucre caulinaire comme chez les Hypnacées (2).

Dans tous les *Lepidozia*, la feuille irrégulière de la base des ramifications est bilobée comme chez le *Frullania* et due à la même cause, étant d'ailleurs placée exactement de la même façon. Comparez les figures 34 et 41 du *Frullania* avec les fig. 38 et 42 du *Lepidozia*. Les feuilles du *Lepidozia*, dont l'insertion est un peu ventrale et la décurrence caulinaire tangente avec celle des amphigastres voisins, montrent que l'initiale du *Lepidozia* a à peu près la même forme que celle des deux genres précédents. L'initiale secondaire (ou segment de premier ordre) se divise en autant d'initiales secondaires que la feuille a de lobes. Dans le cas d'une ramification, la feuille voisine peut avoir 1, 2 ou 3 lobes (ordinairement 2), pendant que la base de la ramification occupe la place de 3, 2 ou 1 lobe (ordinairement 2) sur les quatre lobes habituels et normaux. A part ces variations secondaires, tout se passe comme chez le *Frullania*. Si dans les *Microlepidozia*, les feuilles simples (ou lobes) sont plus ou moins soudées à leur base, au lieu d'être libres comme chez le *Blepharostoma*, cela tient à ce que ces feuilles simples à développement basilaire, d'abord libres, finissent par achever leur développement en même temps, ce qui amène la soudure des lobes à leur base.

Dans les *Microlepidozia*, la feuille irrégulière et bilobée existe aussi, mais passe souvent inaperçue, parce que ses deux lobes ressemblent à ceux des feuilles normales. Sur la fig. 39 de la var. *sertularioides*, la ramification montre, à côté de sa base, une feuille *e* à deux

(1) MÜLLER (K.), *Die Lebermoose*, loc. cit. II, p. 276 b (fig. 83).

(2) DOUIN (Ch.), *L'involucre caulinaire des Hypnacées*, Rev. gén. de Botanique, 1928, p. 453, fig. 1, 2, 3 et 4.

lobes et située du côté ventral comme le prouvent les amphigastres *a* et *a'* généralement plus petits que les feuilles, ce qui prouve que la ramification est *dorsale*; sur d'autres (fig. 42), la feuille réduite *e* à deux lobes se trouve du côté dorsal, comme le prouvent les feuilles *f* et *f'* situées au-dessous; et la ramification est bien *ventrale*. Dans les deux cas, il y a une feuille irrégulière et bilobée *u* à la base de la ramification, comme on peut le reconnaître facilement, attendu que *cette feuille n'est pas sur la même bande longitudinale de tige que les autres au-dessus et au-dessous*. En effet (fig. 39 et 42), elle se trouve à la fois au-dessous des amphigastres et au-dessous de l'une des deux rangées de feuilles voisines.

La réalité de la bifurcation est facile à prouver par les divers procédés signalés dans la première partie. Ainsi, dans la fig. 39, le mérophyte de la feuille réduite *e* appartenant à la tige principale s'étend en *m* depuis l'insertion de la feuille *e* jusqu'à l'insertion de la feuille *ff* située au-dessous; de même, le mérophyte *n* de la feuille irrégulière descend plus ou moins loin le long du mérophyte précédent auquel il est soudé, comme le montrent leurs files longitudinales respectives de cellules au-dessous des insertions des feuilles *e* et *u*. Il en sera forcément de même pour les initiales qui auront formé ces mérophytes, ce qui prouve la réalité de la bifurcation.

Dans le *Lepidozia*, les bases des ramifications sont toujours très nettement latérales, parce qu'elles sont produites, comme chez le *Frullania*, par un segment (ou initiale secondaire) *situé en dehors de l'initiale principale*; c'est pourquoi à la base des deux branches de la bifurcation, le haut de la tige simple est *toujours très notablement élargi*, ce qui est souvent beaucoup moins net chez le *Madotheca* et le *Radula* où l'initiale des ramifications latérales provient de la bipartition de l'initiale principale ou caulinaires.

Les *Blepharostoma*, *Trichocolea*, *Ptilidium*, etc., rentrent dans le groupe précédent des *Lepidozia* et *Frullania* en ce qui concerne la ramification, la formation des lobes foliaires et la composition de la tige formée par une seule et même initiale d'un bout à l'autre.

CONCLUSIONS

En résumé, dans les Hépatiques comme dans les Mousses, il y a deux sortes de ramifications *radicalement différentes*: les rameaux

qui sont des ramifications latérales d'origine interne et qui naissent des initiales secondaires se différenciant vite en initiales principales ; et les branches de bifurcations qui sont très souvent terminales, d'origine externe et qui naissent directement de l'initiale terminale de la tige. Dans les bifurcations secondaires seules, les branches rejetées de côté naissent d'une initiale secondaire venant de naître et peuvent être appelées subterminales ; mais il y a bien aussi bipartition de l'initiale.

On distingue les bifurcations *principales* issues de la bipartition de l'initiale principale et les bifurcations *secondaires* issues de deux initiales différentes : l'une est l'initiale principale qui continue à allonger la tige et l'autre une initiale secondaire qui vient de se détacher de la précédente et qui produit la ramification.

Les bifurcations principales sont *parfaites* ou *imparfaites* selon que les deux branches *sont toutes deux dans le prolongement de la tige primitive* et plus ou moins symétriques, ou suivant que l'une des deux branches plus petite que l'autre est *rejetée de côté* par celle-ci, ce qui la rend latérale et asymétrique. Ces deux sortes de bifurcations principales sont en corrélation avec la manière dont se fait la bipartition de l'initiale. Si les deux initiales obtenues sont d'égale longueur ou à peu près, on a une bifurcation parfaite ; si les deux initiales sont de longueurs très nettement inégales, on a une bifurcation imparfaite.

Les bifurcations secondaires sont toutes imparfaites et asymétriques.

Dans tous les cas, les bifurcations sont produites par *deux initiales soudées qui donnent deux branches soudées à leur base formant le haut de la tige simple primitive* : tels sont les caractères essentiels de toute bifurcation.

Chez les Hépatiques à thalle, les bifurcations sont toutes parfaites, à part le *Metzgeria* (1) où l'on trouve les deux sortes de bifurcations principales.

Dans les bifurcations parfaites, il y a souvent, après la bipartition de l'initiale, deux initiales de formes différentes dont l'une est normale. Alors, l'initiale anormale donne un ou deux segments

(1) DOUIN (Ch.), *Les anomalies et les variations de la nervure chez le Metzgeria furcata* Dum., Bull. de la Soc. bot. de France, 1929, p. 76.

irréguliers qui la rendent normale ; ces segments irréguliers donnent des feuilles irrégulières à la base de la branche avant de donner des feuilles normales. Dans les bifurcations imparfaites, il y a généralement, à la base de la petite branche, une feuille irrégulière qui est due à la même cause.

En outre, une autre différence très importante entre les bifurcations principales et les bifurcations secondaires est la suivante : dans les premières, la tige principale n'est pas simple bien que le paraissant ; elle est formée par une suite d'initiales successives changeant à chaque ramification et issues les unes des autres par des bipartitions, comme chez les Hypnacées ; dans les secondes, la tige principale est formée par une seule et même initiale d'un bout à l'autre comme dans les Bryacées.

Ces caractères se traduisent à l'observation par les différences suivantes : dans les bifurcations parfaites, les deux branches s'appuient *toutes deux sur le haut de la tige primitive* ; dans les bifurcations imparfaites, la ramification, c'est-à-dire la petite branche est insérée *latéralement le long de la tige principale* dont elle se détache par une base *en biseau*.

La fausse-dichotomie de KNY et l'Interkalare Verzweigung n'ont jamais existé, pas plus comme point de départ des bifurcations que pour former la ramification ; par contre, l'Endverzweigung existe bien réellement. Elle s'accorde avec ce que je désigne sous le nom de bifurcations secondaires ; mais, c'est une hypothèse mal caractérisée. Considérée par LEITGEB comme une ramification indépendante, elle est solidaire de la tige principale avec laquelle elle forme une bifurcation.

EXPLICATION DES FIGURES

PLANCHE VIII

1. — Schéma montrant la segmentation de l'initiale du *M. furcata*.
2. — Schéma de deux initiales du même ayant donné chacune un segment du côté interne.
3. — Schéma semblable au précédent, mais les deux initiales ont donné chacune plusieurs segments.
4. — Bifurcation imparfaite du *M. furcata*.
5. — Bipartition de l'initiale du même donnant une bifurcation imparfaite.
6. — Ce que deviennent le plus souvent les deux initiales précédentes avant de donner une bifurcation imparfaite.
7. — Schéma de la bipartition de l'initiale dans les bifurcations parfaites montrant que les premiers mérophytes des deux branches s'appuient sur les derniers mérophytes de la tige primitive.
8. — Bifurcation parfaite du *F. Dumortieri*.
9. — Schéma montrant la disposition des deux initiales et de leurs segments qui vont donner une bifurcation imparfaite.
10. — Forme réelle de l'initiale du *M. furcata*.
11. — Schéma montrant ce qui se passe quand la petite initiale n'est pas rejetée de côté.
12. — Figure de la fausse-dichotomie du *Metzgeria*, d'après MM. CHALAUD et NICOLAS (*Bull. de la Soc. bot. de France*, 1927, p. 122).
13. — Bifurcation parfaite à branches inégales du *L. cuspidata*.
- 14 et 15. — Insertions des deux lobes d'une feuille du *M. rivularis*.
16. — Les insertions précédentes placées bout à bout.
17. — Schéma de l'initiale du *L. cuspidata* qui a donné la bifurcation (fig. 13) : *ar*, *f* et *f'*, trois derniers segments de l'initiale primitive ; *xy*, ligne divisant l'initiale précédente en deux initiales *la* et *Ib* ; *am*, *f₁* et *t₁*, premiers segments de l'initiale *la* ; *an*, *f₁* et *t₁*, premiers segments de l'initiale *Ib* ; dans la fig. 13, les feuilles et les amphigastres sont désignés par les mêmes lettres que les segments correspondants de la fig. 17.

PLANCHE IX

- 18 et 20. — Bifurcation de l'*A. scalaris* vue sur les deux faces (les mêmes organes sont désignés par les mêmes lettres).
- 19 et 23. — Schéma de la segmentation de l'initiale du même montrant comment sont obtenus les amphigastres *a*, et *a₂* de la fig. 18.
- 21 et 22. — Modes de bipartition de l'initiale du *Metzgeria* (en coupe longitudinale) dans les bifurcations parfaites.
24. — Bipartition suivant *mne* d'une initiale à trois faces dans les bifurcations imparfaites (initiales à longueurs inégales) ; le plan *ucd* divise l'initiale en deux initiales d'égale longueur (cas des bifurcations parfaites).
25. — Ce que devient l'initiale *Ib* précédente pour donner une bifurcation imparfaite.
26. — Bifurcation parfaite d'une tige dressée du *G. inflata*, avec une feuille irrégulière *f* à la face dorsale.
27. — Bifurcation parfaite d'une tige plus ou moins couchée du *P. interruptum* avec une feuille irrégulière *f* à la face ventrale.

28. — Portion de la surface de la tige prise à la base d'un rameau du *F. hygrometrica* montrant que les files longitudinales de cellules ne se continuent pas sur deux mérophytes successifs : B partie décurrenente sur la tige d'une feuille dont la partie libre ou feuille proprement dite a été arrachée au-dessus des cellules *a, b, c, d, e*, etc. Ces dernières cellules sont les bases des initiales basilaires qui ont formé la feuille proprement dite enlevée ; *m, n, r, i, u*, poils aquifères et nutritifs servant à alimenter les initiales basilaires. Les files longitudinales de cellules de la partie A appartenant à deux feuilles au-dessus passent sous la partie B où elles sont visibles au microscope par transparence.
29. — Bifurcation parfaite à branches inégales du *L. anomalus* vue en dessus : en *bc* insertion de la feuille *d* séparant entre *m* et *n* les deux branches soudées de la bifurcation ; on voit très distinctement ces deux branches s'appuyer toutes deux sur la tige primitive.
- 30, 31 et 32. — Bipartitions de l'initiale dans lesquelles l'une des deux initiales commence par donner un segment *s* qui la rend normale.

PLANCHE X

33. — Base d'une ramification latérale du *M. laevigata* arrachée de la tige par une traction vers la base de celle-ci : en *v* partie en biseau soudée à la tige principale ; *u* feuille irrégulière.
34. — Base d'une ramification latérale du *F. dilatata* arrachée de même : *c*, grand lobe auquel se réduit la feuille voisine de la ramification ; *u u*, feuille irrégulière.
35. — Portion de tige du *M. platyphyl a* avec la base d'une ramification latérale.
36. — Bases décurrenentes sur la tige de l'amphigastre *ar* et de la feuille irrégulière *u* de la figure 37 qui suit.
37. — Portion de tige du *F. dilatata* avec une ramification latérale dont l'ensemble simule une bifurcation parfaite : l'amphigastre normal *ar* et la feuille irrégulière *u* ont leurs insertions juxtaposées et soudées.
38. — Base d'une ramification du *L. Pearsoni* arrachée de la tige principale comme dans les fig. 33 et 34 : *v*, partie basilaire en biseau portant la feuille irrégulière *u*.
39. — Portion de tige du *L. setacea* var. *sertularioides* vue en dessous avec la base d'une ramification latéro-dorsale : *a* et *a'* amphigastres ; *e*, feuille réduite à deux lobes par la ramification voisine ; *u*, feuille irrégulière et bilobée.
40. — Partie de tige du *L. Pearsoni* vue en dessus avec trois feuilles se recouvrant un peu latéralement sur le milieu de la tige.
41. — Portion de tige du *F. dilatata* avec la base d'une ramification : *c*, feuille de la tige réduite au grand lobe.
42. — Tige de la var. *sertularioides* précédente vue en dessus avec la base d'une ramification latéro-ventrale : *e*, feuille réduite à deux lobes par la ramification ; *f* et *f'*, feuilles normales ; *u*, feuille irrégulière et bilobée.
43. — Schéma montrant la base libre de l'initiale du *Madotheca* divisée en deux initiales suivant *mn* après avoir donné une série de segments *a b c d* et *ar*.
44. — Initiale précédente vue en entier.
45. — Initiale du *Radula* divisée en deux autres *Ia* et *Ib* qui deviennent très vite normales *Ia'* et *Ib'*.
46. — Base externe de l'initiale du *Frullania* ayant donné une série de segments *d, bc, d', b'c', ar* ; *bc*, initiale secondaire origine de la ramification.
47. — Segmentation probable de l'initiale secondaire précédente *bc* : *u*, segment donnant la feuille irrégulière *u* (fig. 41) ; ce qui reste de l'initiale prend alors la forme normale et définitive de l'initiale du *Frullania*.

RÉSOLUTIONS ADOPTÉES

PAR LE SIXIÈME CONGRÈS INTERNATIONAL DE BOTANIQUE

(Amsterdam, 2-7 septembre 1935)

1. — *Résolution générale.*

Il est proposé que la Section de Botanique de l'Union Internationale des Sciences Biologiques, fonctionnera comme un lien administratif entre les Congrès Internationaux de Botanique successifs, lesquels garderont leur indépendance entière au point de vue international, mais à condition que les pays qui ne se seront pas affiliés à l'Union aient les mêmes droits que les pays qui se sont affiliés.

Il est proposé que la Section de Botanique de l'Union soit chargée de l'exécution des résolutions des Congrès Internationaux de Botanique.

Présenté par A.C. SEWARD et appuyé par J.C. SCHONTE, E.J. BUTLER, E.D. MERRILL, B. NEMEC, M.J. SIRKS, et N. E. SVEDELIUS.

2. — *Résolution générale.*

En raison des difficultés financières croissantes et du prix prohibitif pour certains musées et laboratoires, des expéditions par poste, chemin de fer et bateau, il devient impossible d'assurer l'échange indispensable des collections de plantes sèches. Il est donc nécessaire d'obtenir, pour cet échange, la gratuité des transports déjà accordée pour l'échange des publications scientifiques.

Le Sixième Congrès International de Botanique charge le Bureau de l'Union Internationale des Sciences Biologiques de faire

les démarches nécessaires auprès des divers gouvernements pour obtenir cette franchise de port.

Proposé par B.G.P. HOCHREUTINER et appuyé par H. HUMBERT, E.D. MERRILL, A.A. PULLE et C. SKOTTSBERG, au nom de la réunion des Directeurs des Jardins Botaniques.

3. — *Section d'Agronomie.*

Il est proposé que le Septième Congrès international de Botanique organise une Section d'Agronomie semblable à celle du Sixième Congrès.

Proposé par la Section d'Agronomie.

4. — *Sections de Cytologie et de Génétique.*

Il est proposé que la Section de Botanique de l'Union internationale des Sciences Biologiques de la part du Sixième Congrès International de Botanique veuille demander au Comité International, pour les Congrès de Génétique, la création d'un Comité pour étudier les différentes significations des divers termes cytologiques et génétiques employés en littérature, de proposer les définitions exactes de ces termes et de suggérer si, et quelles démarches supplémentaires seraient nécessaires pour perfectionner la terminologie de la Génétique et de la Cytologie.

Présentée par F. W. SANSOME et appuyée par M. J. SIRKS.

5. — *Section de Cytologie et de Génétique.*

Les Sections de Génétique et de Cytologie du Sixième Congrès International de Botanique profitent de leur présence en Hollande pour affirmer la grande estime que les Sciences de la Génétique et de la Cytologie doivent au souvenir de Hugo de Vries. C'est une satisfaction pour elles de voir qu'il a atteint un âge avancé, en sorte qu'il pût contempler le bâtiment impressionnant construit sur les fondements de ses recherches minutieuses et de sa vision prophétique qui ont joué un rôle si important.

Le Secrétaire du Congrès est prié d'ajouter cette résolution aux Comptes-rendus du Congrès et d'envoyer une copie à Mme de Vries, avec la sympathie du Congrès et avec l'assurance que Hugo de Vries

restera pour toujours l'inspirateur des biologistes et, que sa mémoire survivra comme celle des héros immortels de la science.

Présentée par A.F. BLAKESLEE et appuyée par F. OEHLKERS et E.W. SINNOTT.

6. — *Section de Géobotanique.*

Le Sixième Congrès International de Botanique à Amsterdam 1935, demande à tous les botanistes et cartographes d'employer, pour les mêmes ensembles de plantes, les mêmes couleurs, et, pour les cartes synoptiques, les mêmes teintes, d'accord avec les propositions présentées au Cinquième Congrès International de Botanique. Le cas échéant, les modifications nécessaires devront être motivées.

Présentée par H. BROCKMANN-JEROSCH et appuyée par E. SCHMID et R. MOLINIER.

7. — *Section de Géobotanique.*

Le Sixième Congrès International de Botanique (Amsterdam, 1935) attire tout spécialement l'attention des Pouvoirs Publics, Instituts scientifiques et Groupements pour la Protection internationale de la Nature, sur le danger redoutable que fait courir, à l'avenir de vastes territoires, la destruction inconsidérée de la végétation primitive, spécialement dans les pays tropicaux et sub-tropicaux, par la pratique néfaste des feux de brousse ou de prairie.

Il signale à ce sujet les transformations souvent radicales que cette pratique amène dans le complexe biologique constitué par l'ensemble des végétaux et des animaux. D'une part, un très grand nombre d'espèces sont menacées de disparition totale à bref délai ; or beaucoup d'entre elles sont du plus haut intérêt, au point de vue scientifique, esthétique et économique. D'autre part, des contrées naguère couvertes d'une végétation sylvestre, de types très variés, sont devenues ou sont en voie de devenir des déserts, à la suite des perturbations que l'ablation de cette végétation amène dans le climat local, dans le régime hydrologique et dans les caractères physico-chimiques du sol.

Le Congrès insiste sur la nécessité :

1^o De constituer, dans ces pays, des Réserves intangibles, assez étendues pour sauvegarder l'équilibre du milieu naturel et des êtres vivants des deux règnes : végétal et animal (Parcs Nationaux).

2^o En dehors des territoires ainsi constitués en Réserves intangibles, de pallier aux conséquences des défrichements et de l'exploitation par le maintien d'une proportion suffisante des surfaces forestières, en prenant ce mot au sens le plus large ;

3^o D'éviter la substitution de boisements en essences exotiques à des formations sylvestres autochtones (d'accord avec les conclusions de l'International Conference for the Protection of the Fauna and Flora of Africa, London, 1933).

Présentée par H. HUMBERT et P.G. van TIENHOVEN et appuyée par R. BOUILLENNE, J. BURTT DAVY, A. CHEVALIER, L. EMBERGER, A.W. HILL, J. JESWIET, P. LEDOUX, R. MAIRE, E.D. MERRILL, G. NEGRI, I.B. POLE EVANS, J. RAMSBOTTOM et A. WILCZEK.

8. — *Section de Géobotanique.*

Le Congrès est conscient des dangers très grands qui résultent de la destruction des végétations tropicale et subtropicale et même des perturbations apportées dans ces régions par l'intervention de l'homme. Il insiste donc pour que les botanistes de ces contrées étudient ces questions et qu'ils en informent leurs gouvernements respectifs. Le Congrès demande en particulier que des informations soient réunies sur le sujet et qu'elles soient publiées, en vue d'une protection plus efficace de la végétation indigène.

Le congrès enfin se décide à nommer un Comité avec mission de suivre cette affaire et de présenter un rapport au Septième Congrès. Les personnes suivantes sont nommées dans ce Comité :

I.B. POLE EVANS, président ; H. HUMBERT et E.D. MERRILL, J. NABELEK, vice-présidents ; R. BOUILLENNE, H. BROCKMANN, JEROSCH, A. CHEVALIER, L. EMBERGER, A.W. HILL, J. JESWIET, P. LEDOUX, R. MAIRE, G. NEGRI, L.R. PARODI et M.F. GALLEGU QUERO et comme secrétaire J. TROCHAIN.

Présentée par I.B. POLE EVANS et appuyée par H. HUMBERT.

9. — *Section de Géobotanique.*

Il est proposé que soient inscrites à l'ordre du jour du Septième Congrès international de Botanique l'étude et la caractérisation des divers types de steppes, leur origine, leur évolution et spécialement les critères de discrimination des associations climatiques et des associations secondaires confondues sous les noms de « steppe » « prairie », « savane »; enfin, la définition des territoires phytogéographiques correspondants.

Présentée par H. HUMBERT et appuyée par L. EMBERGER, H. GAMS, R. MAIRE, R. BOUILLENNE, A. EIG, G. NEGRI, J. TROCHAIN, H. BOJKO, P. LEDOUX, A. CONARD, E. WILCZEK, E. SCHMID et J. PODPERA.

10. — *Section de Géobotanique.*

Il est demandé qu'une Commission soit nommée pour rédiger les propositions en vue d'une classification des climats au point de vue phytogéographique; ces propositions seraient soumises à la discussion du Septième Congrès International de Botanique.

Présenté par L. EMBERGER et appuyé par H. BROCKMANN JEROSCH, S.P. AGHARKAR, A. CHEVALIER, A. EIG, H. GAMS, H. HUMBERT, P. LEDOUX, T. LIPPMAN, R. MAIRE, G. NEGRI, R. PAMPANINI, I.B. POLE EVANS, J. TROCHAIN.

11. — *Section de Géobotanique.*

La section de Géobotanique propose que :

1° Le terme *Sociation*, au sens des phytosociologistes scandinaves, soit employé pour désigner les unités de végétation basées surtout sur la dominance dans les divers strates;

2° Le terme *Association* soit employé pour désigner les unités de végétation basées surtout sur les espèces caractéristiques et différentielles au sens Zurich-Montpellier ou du moins pour des unités de même ordre d'importance. On peut employer les termes *Subassociation* et *Facies* pour les unités d'ordre inférieur;

3° Sociations et Associations peuvent être réunies en *Alliances* en sens de Zurich-Montpellier et celles-ci en unités supérieures.

Présentée par J. BRAUN BLANQUET, G.E. DU RIETZ et R. NORDHAGEN.

12. — *Sections de Mycologie et de Pathologie.*

Le Sixième Congrès International de Botanique tient à exprimer son admiration sincère pour le travail accompli par le Centraalbureau voor Schimmelculturen à Baarn, depuis sa fondation en 1906. Il regrette d'autant plus les difficultés financières rencontrées par cette institution essentiellement internationale.

Présentée, pour la Section de Mycologie, par J. RAMSBOTTOM et appuyée par E.J. BUTLER et pour la Section de Pathologie, présentée par E. RIEHM et appuyée par E.C. STAKMAN.

13. — *Section de Pathologie.*

Le Comité pour la description et la nomenclature des virus végétaux nommé par le Cinquième Congrès International de Botanique, en 1930, ose constater que son travail concernant la nomenclature des virus végétaux s'est développé d'une manière satisfaisante, et il propose au Congrès actuel que le Comité soit autorisé à continuer son travail et à établir un système raisonnable et pratique pour la nomenclature des virus végétaux.

Présentée par H.M. QUANJER et appuyée par James JOHNSON, P.A. MURPHY, J. HENDERSON SMITH et G. SAMUEL.

14. — *Section de Pathologie.*

On propose de substituer l'expression « race physiologique » à l'expression « forme physiologique » employée jusqu'ici. Puis on propose que le mot « race » soit employé généralement pour désigner les biotypes ou des groupes de biotypes, différents les uns des autres dans leurs caractères physiologiques.

Présentée par E.C. STAKMAN et appuyée par Miss M. NEWTON, Miss G. WILBRINK et Th. ROEMER.

15. — *Section de Pathologie.*

Le Sixième Congrès International de Botanique émet l'avis : qu'une lutte effective et continue contre les maladies des plantes et les insectes nuisibles ne peut être effectuée avec succès que par une action internationale et une coopération étroite entre les divers pays ; qu'une discussion fréquente des problèmes relatifs

au contrôle des maladies des plantes importées devra être organisée afin d'obtenir l'amélioration de l'état sanitaire des plantes et des produits végétaux dans chaque pays; que le Congrès s'accorde à reconnaître qu'une action commune et des discussions fréquentes relatives aux mesures de quarantaine faciliterait beaucoup le commerce international;

Que cette résolution soit soumise officiellement à l'attention de la Société des Nations afin de lui faire savoir que son projet de s'occuper de questions phytopathologiques est chaudement appuyé par le Congrès qui lui demande de prendre en sérieuse considération ces problèmes.

Présentée par H.T. Cussow et appuyée par N. van POETEREN.

16. — *Section de Systématique.*

Le Sixième Congrès international de Botanique accepte les propositions suivantes proposées par le Comité permanent international pour les besoins urgents de la systématique :

1° *La complication d'une nouvelle Phytographie.* Le livre ne doit pas traiter la matière complète présentée dans la « Phytographie » de De Candolle; il doit préparer une nouvelle compilation des collections représentées dans les grands herbiers du monde. Les Instituts sont priés de préparer une liste de leurs collections.

2° *Photos des spécimens des types.* Le projet de photographier les types de toutes les plantes décrites est important, et doit être encouragé, mais cela sera bien coûteux. Puisque les moyens de presque tous les instituts sont limités en ce moment, cette proposition doit être laissée pour le prochain Congrès.

3° *Dictionnaire international de la terminologie botanique.* Le dictionnaire doit être limité aux Phanérogames. Les spécialistes des groupes spéciaux doivent s'occuper des Cryptogames. Le mot latin doit être traduit et expliqué en anglais, français et allemand. Pour l'emploi dans les pays des autres langues, les botanistes de tels pays devront ajouter des traductions. On devra publier les termes dans une série alphabétique. A la fin, les termes les plus importants pour les groupes spéciaux (par exemple, le feuillage, les racines, les Orchidées) pourront être encore une fois réunis.

4° Il est de la plus haute importance que les spécimens des types de Linné qui se trouvent en possession de la Linnean Society et du British Museum soient photographiés.

Présentée pour le Comité permanent international pour les besoins urgents de la Systématique par L. DIELS et appuyée par A.D. COTTON, R. FRIES, R. MAIRE, E.D. MERRILL et J. RAMSBOTTOM.

17. — *Section de Systématique. Sous-Section de Nomenclature.*

Vœux de remerciements.

A la Commission de rédaction des Règles internationales de Nomenclature Botanique (III^e Edit., 1935) à savoir : Le P^r HARMS (Editeur général), le D^r RENNES et le P^r HOCHREUTINER pour la manière, très satisfaisante, dont ils ont accompli leur tâche particulièrement difficile.

Au Comité Exécutif du Ve Congrès International de Botanique de Cambridge (1930) pour avoir supporté les frais de publication de *Synopsis des Propositions* et les *Avis préliminaires* relatifs à la Nomenclature.

Résolution.

Que le Sixième Congrès International de Botanique adopte les décisions de la Section de Systématique et de Nomenclature concernant les modifications à apporter aux Règles internationales de Nomenclature botanique (III^e Edit. 1935) et sanctionne la nomination des différents comités proposés par cette Section.

NÉCROLOGIE

Nous avons appris, avec le plus vif regret, la mort de M. HUGO DE VRIES, né à Haarlem (Hollande), en 1848, professeur de Botanique à l'Université d'Amsterdam et Correspondant de l'Académie des Sciences de Paris. On sait que ses observations sur des *Oenothères* rencontrées dans un champ, à Hilversum, furent l'origine d'une nouvelle théorie mettant en évidence la naissance de nouvelles espèces par variations brusques ou mutations. Aussi son nom sera-t-il toujours cité à côté de ceux des fondateurs de la doctrine transformiste : LAMARCK et DARWIN dont il partagera la gloire.

C'est également avec peine que nous annonçons la mort de M. WENT, professeur de Botanique aux Universités d'Utrecht et de Leyde, Membre de l'Académie des Sciences de Hollande, dont on connaît les belles recherches sur les vacuoles et surtout sur les tropismes et les hormones végétales.

CHRONIQUES ET NOUVELLES

M. GUILLIERMOND, membre de l'Institut, a été nommé professeur de Botanique à la Sorbonne, en remplacement de M. DANGEARD, membre de l'Institut, admis à faire valoir ses droits à la retraite.

M. GUILLIERMOND est remplacé dans ses fonctions au P.C.B., par M. COMBES, professeur à la Sorbonne.

M. PLANTEFOL, sous-directeur au Collège de France, a été nommé Chargé de cours à la Sorbonne (P.C.B.) en remplacement de M. COMBES.

M. DAUPHINÉ a été nommé Chargé de Conférences à la Sorbonne (P.C.B.).

M. MANGENOT, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de Rennes, vient d'être nommé professeur sans chaire à la même Faculté.

L'Académie des Sciences a décerné, en 1935, les prix suivants.

Le prix Desmazières à M. Pierre DANGEARD, professeur à la Faculté des Sciences de Bordeaux, pour son *Traité d'Algologie*.

Le Prix Montagne à M. Charles KILLIAN, professeur de botanique agricole à la Faculté des Sciences d'Alger, pour l'ensemble de ses travaux.

Le prix Jean Thore à M. Robert DOUIN, professeur à l'Université de Lyon, pour l'ensemble de ses travaux et particulièrement pour l'importante contribution qu'il a apportée à l'achèvement de la Flore illustrée de France (12 volumes) dont la conception revient à son maître Gaston Bonnier.

Le Prix de Coincy au Frère MARIE-VICTORIN, Directeur de l'Institut de Botanique de l'Université de Montréal, pour l'ensemble de ses travaux de floristique.

Le prix Jean de Rufz de Lavison à M. ROBERT ÉCHEVIN, assistant à la Faculté des Sciences de Paris, pour ses travaux relatifs au métabolisme de l'azote, du phosphore et du soufre dans les feuilles caduques des plantes ligneuses.

Le prix Paul Marguerite de la Charlonie, à M. Albert DEMOLON, inspecteur général des stations et laboratoire du Ministère de l'Agriculture, pour ses recherches concernant : le développement des végétaux ; l'oxydation biologique du soufre élémentaire introduit dans le sol ; les colloïdes des sols et l'importance de la réaction des sols.

Le prix Pourat à M. l'Abbé Jules CARLES, licencié ès lettres, docteur ès sciences, pour ses recherches sur le chimisme et la classification des Iris.

Le grand prix des Sciences physiques à M. Auguste LOUBIÈRE docteur ès sciences, sous-directeur de laboratoire au Muséum national d'Histoire naturelle, pour ses recherches d'anatomie comparée végétale et de paléobotanique.

Le prix Petit d'Ormo y à M. le Dr René MAIRE, correspondant de l'Académie des Sciences, professeur à la Faculté des Sciences d'Alger, pour ses travaux sur la flore de l'Afrique du Nord.

Le prix Henry Wilde à MM. Paul BERTRAND et Pierre PRUVOST, professeurs, Paul CORSIN, assistant de Paléobotanique, Gérard WATERLOT, assistant de Géologie à la Faculté des Sciences de Lille, pour leur étude des formations houillères de la Sarre et de la Lorraine et, en particulier, la description de leur flore.

BIBLIOGRAPHIE

Ch. MAURAIN. — Sur les caractéristiques numériques relatives aux facteurs climatiques chaleur et lumière. *Annales de l'Institut de Physique du globe de l'Université de Paris*. T. 13, 1935, p. 71.

On sait quel rôle capital joue, en Phytogéographie, l'étude des éléments dits « facteurs climatiques » ; la définition que l'on donne de ces facteurs est généralement peu précise et leur caractérisation numérique présente de nombreuses difficultés. L'auteur fait un examen des caractéristiques numériques relatives à la chaleur et à la lumière ; il entreprend une étude critique des méthodes et des formules qui font intervenir la température, la durée d'insolation, la durée du jour, les divers genres de mesures actinométriques. Il met en évidence l'intérêt qu'il y a à utiliser plus largement qu'on ne l'a fait jusqu'à présent l'intensité énergétique de la radiation globale, dont les méthodes de mesure sont maintenant satisfaisantes. Cette intensité paraît donner actuellement l'indication générale la plus importante sur les facteurs climatiques : chaleur et lumière.

Le travail de M. MAURAIN présente un intérêt tout particulier pour les phytogéographes ; en outre des directives générales pour l'étude des facteurs climatiques chaleur et lumière, les spécialistes de la région parisienne trouveront des données précieuses dans les tableaux de documents numériques qu'il contient et qui sont relatifs aux observations faites, depuis près de trente ans, à l'Observatoire du Parc Saint-Maur.

R. COMBES.

KÜSTER (Ernst). — Die Pflanzenzelle. Vorlesungen über normale und pathologische Zytomorphologie und Zytogenese. (La cellule végétale. Leçons sur la morphologie et le développement de la cellule à l'état normal et pathologique). XII + 672 p., 323 fig. Fischer, Iéna, 1935. — Voici un gros livre sur la cellule, fruit de très nombreuses années de travail, une vieille préoccupation de l'auteur, menée heureusement à son terme depuis qu'il a quelque peu délaissé les problèmes de l'anatomie pathologique et de la cécidogénèse au profit de ceux de la structure cellulaire. Le titre ne trompe pas : l'ouvrage est entièrement consacré à la cellule végétale, sans aucune digression. Pourtant ce n'est pas un traité de cytologie. En effet l'auteur ne cherche pas à discuter et à coordonner les résultats acquis d'une science faite, mais au contraire à faire connaître les données nombreuses, quoique disparates, qui font pressentir la science à faire. Cette inten-

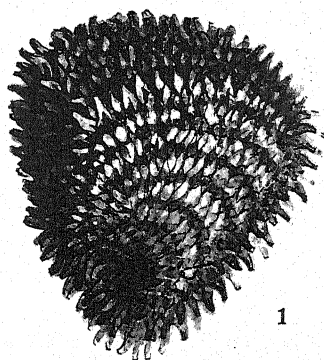
tion évidente de l'auteur peut avoir, selon le jugement du lecteur, des avantages ou des inconvénients : des avantages considérables assurément, en ce sens que toute théorie est absente et que par suite rien ne trouble la sincérité de l'observation ; des inconvénients peut-être aux yeux de certains, qui chercheraient avant tout un traité d'enseignement, avec l'exposé synthétique et critique que cela comporte. Ne soyons donc pas surpris si quelques chapitres classiques de la cytologie nous paraissent brièvement condensés. En France, où nous sommes très préoccupés par le problème morphologique des constituants cellulaires, on s'étonnera sans doute de voir très rapidement traités les problèmes d'homologie entre les divers éléments. De même celui dont la curiosité s'oriente surtout vers la génétique regrettera peut-être de ne pas voir, comme dans certains traités de cytologie, les grands problèmes de la génétique traités à la lumière de la cytologie du noyau. En vérité une telle manière de faire eut été absolument contraire à l'esprit de KÜSTER : pour lui, la description de la cellule ne saurait être l'occasion d'une fuite vers d'autres sujets ; c'est la cellule elle-même et elle seule qui l'intéresse. Ainsi il ne pense pas que, parce que les grands phénomènes physiologiques sont certainement des propriétés cellulaires, il faille en introduire l'étude, sous le nom de physiologie cellulaire, dans un traité de la cellule. De même encore la chimie et la physique sont reléguées à l'arrière-plan.

Ce qu'apporte le livre de KÜSTER est donc autre chose que tout cela : avant tout une description minutieuse de tous les aspects possibles, normaux ou pathologiques de la cellule. Voici par exemple des objets longuement décrits : la structure du corps protoplasmique avec ses mailles, ses trabécules limitant les espaces vacuolaires ; les modes du décollement plasmolytique et de la déplasmolyse ; les divers types de mouvements protoplasmiques (circulation et écoulement du protoplasme, reptation des Diatomées, mouvements amiboïdes), la greffe protoplasmique. Notons encore, sur le protoplasme et le noyau, la discussion de leur fluidité ; sur le noyau et les plastes, l'étude des anomalies et des modes de dégénérescence. Abordant la mitose, KÜSTER est beaucoup moins retenu, par l'idée de classer rationnellement les types de mitoses, que par le souci d'éprouver la réalité matérielle des aspects de la mitose (discussion du fuseau achromatique). La même intention extrêmement concrète se manifeste dans l'étude des vacuoles dont les transformations sont analysées longuement (contraction ; précipitations provoquées ou spontanées...), alors que l'homologation éventuelle avec l'appareil de Golgi n'est citée qu'en quelques lignes rapides et discrètement dubitatives. Un chapitre est consacré aux inclusions solides, surtout aux grains d'amidon (dont sont longuement décrites les formes et structures normales et pathologiques, les aspects de digestion, etc.), mais également aux cristaux d'oxalate, aux dépôts de silice, aux cristalloïdes protéiques ; c'est là que sont traitées les inclusions grasses, les vacuoles à gaz des Cyanophycées. Le chapitre sur la membrane est considérable, traitant d'abord des coques des Protistes, puis des divers modes de croissance de la membrane, des cystolithes et organes analogues, de la structure stratifiée et anisotrope de la membrane, des plasmodesmes, des imprégnations chimi-

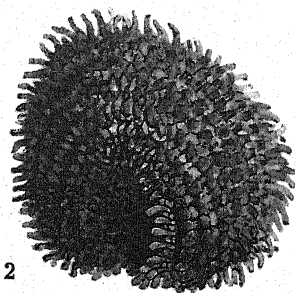
ques de la membrane, enfin des ruptures, dissolutions (locale et générale), soudures des membranes. Le dernier chapitre (Développement de la cellule) donne beaucoup d'indications sur la taille atteinte par la cellule, les anomalies de la forme, la polarité cellulaire, les modes de la division cellulaire et du cloisonnement, le partage en deux cellules inégales, la régénération cellulaire, la symbiose, la vieillesse, la mort de la cellule. Même au cours des réflexions générales qui terminent l'ouvrage se manifeste encore le goût du concret, dans l'effort fait pour définir les aspects caractéristiques de l'état vivant.

KÜSTER est essentiellement un artiste; aussi son livre est-il d'une espèce rare et particulièrement précieuse étant donné le sujet traité. Il ne paraît pas douteux que la curiosité passionnée de la cellule, le désir jamais satisfait d'en voir tous les aspects possibles, la recherche incessante de formes et de structures inédites, voire déconcertantes, sont en cytologie le meilleur ferment du progrès. Je suis convaincu que le livre de KÜSTER, qui évite à la fois l'écueil de l'érudition et l'écueil de la construction théorique, sera, pour le chercheur désireux d'une intimité étroite avec la cellule, un guide extrêmement précieux. Un texte fluide, d'une très belle langue, rend la lecture agréable et permet à KÜSTER d'insinuer graduellement au lecteur sa propre passion de voir et de sentir les choses telles qu'elles sont.

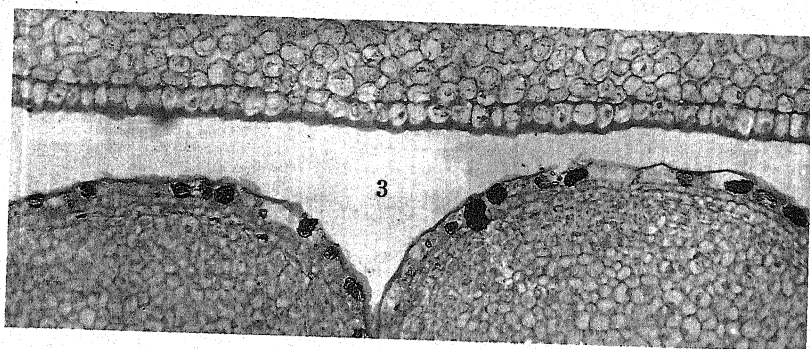
H.-J. MARESQUELLE.



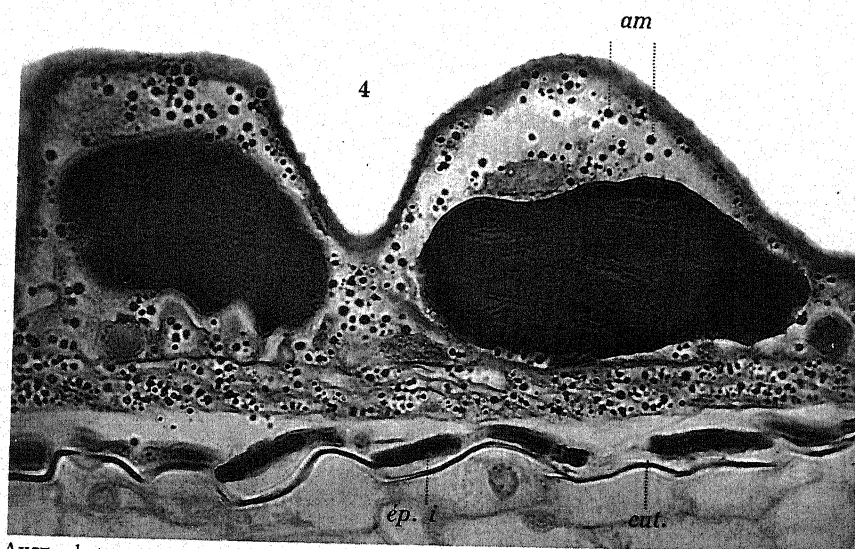
1



2



3



4

am

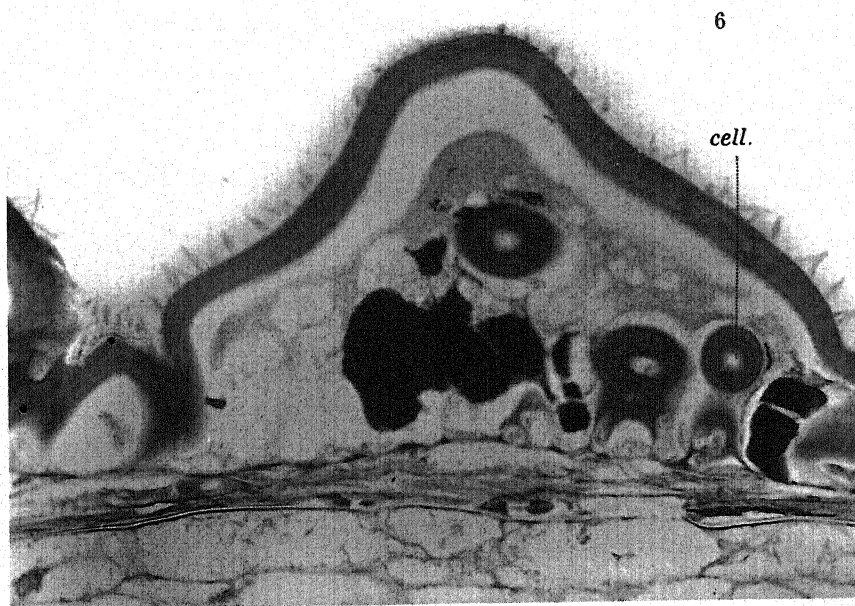
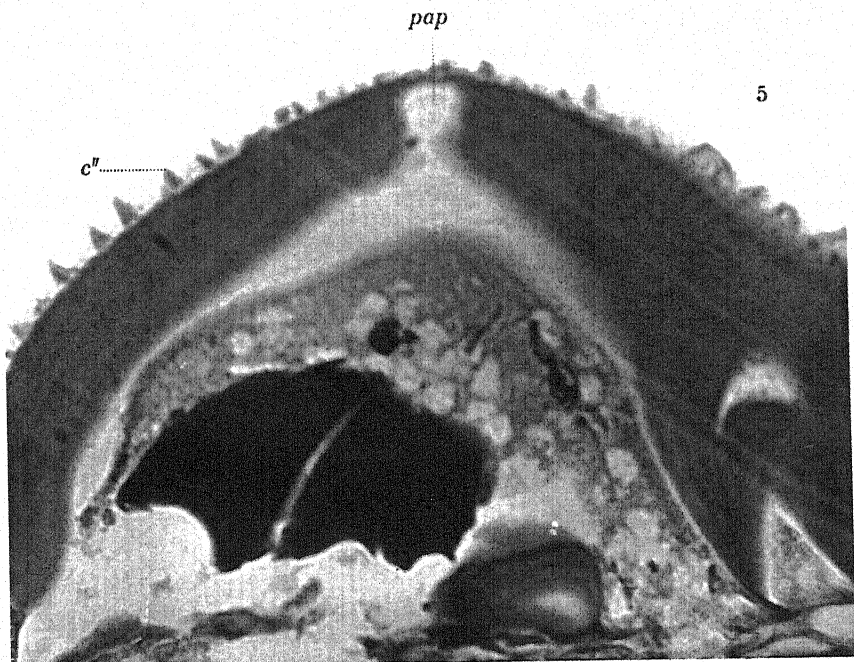
ép. l

cut.

AUCT. phot.

BOUAN del.

Agrostemma Githago L.

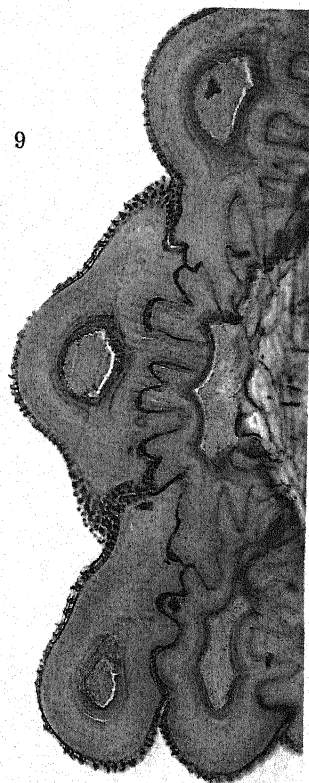
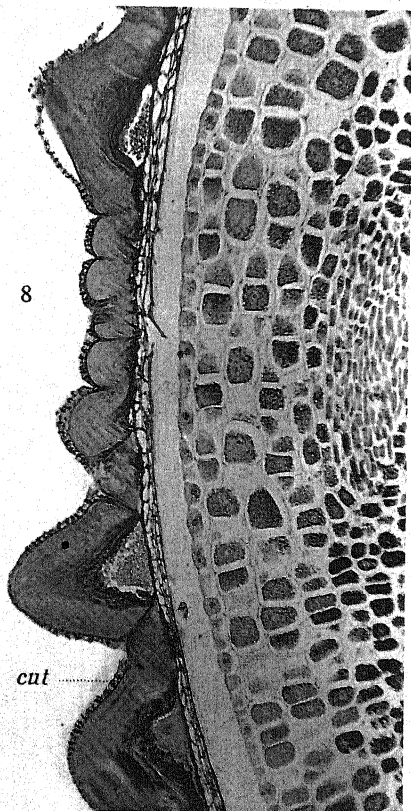
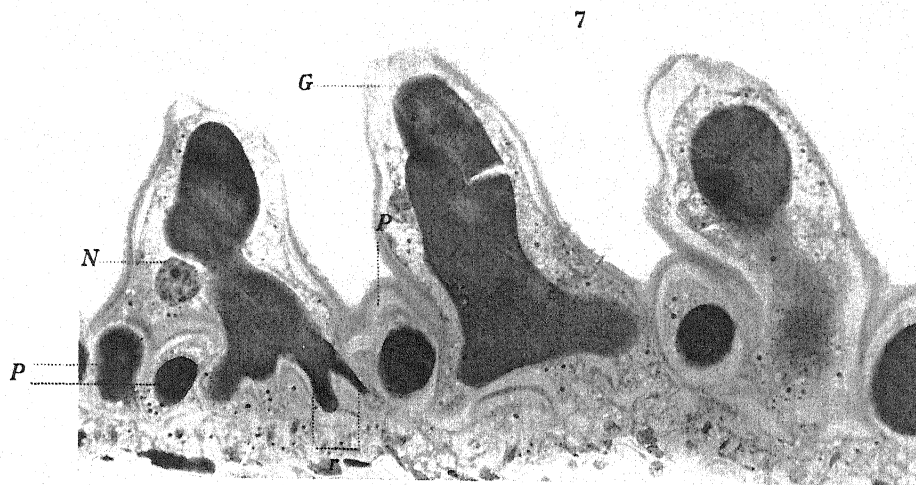


Aucr. phot.

BOUAN del.

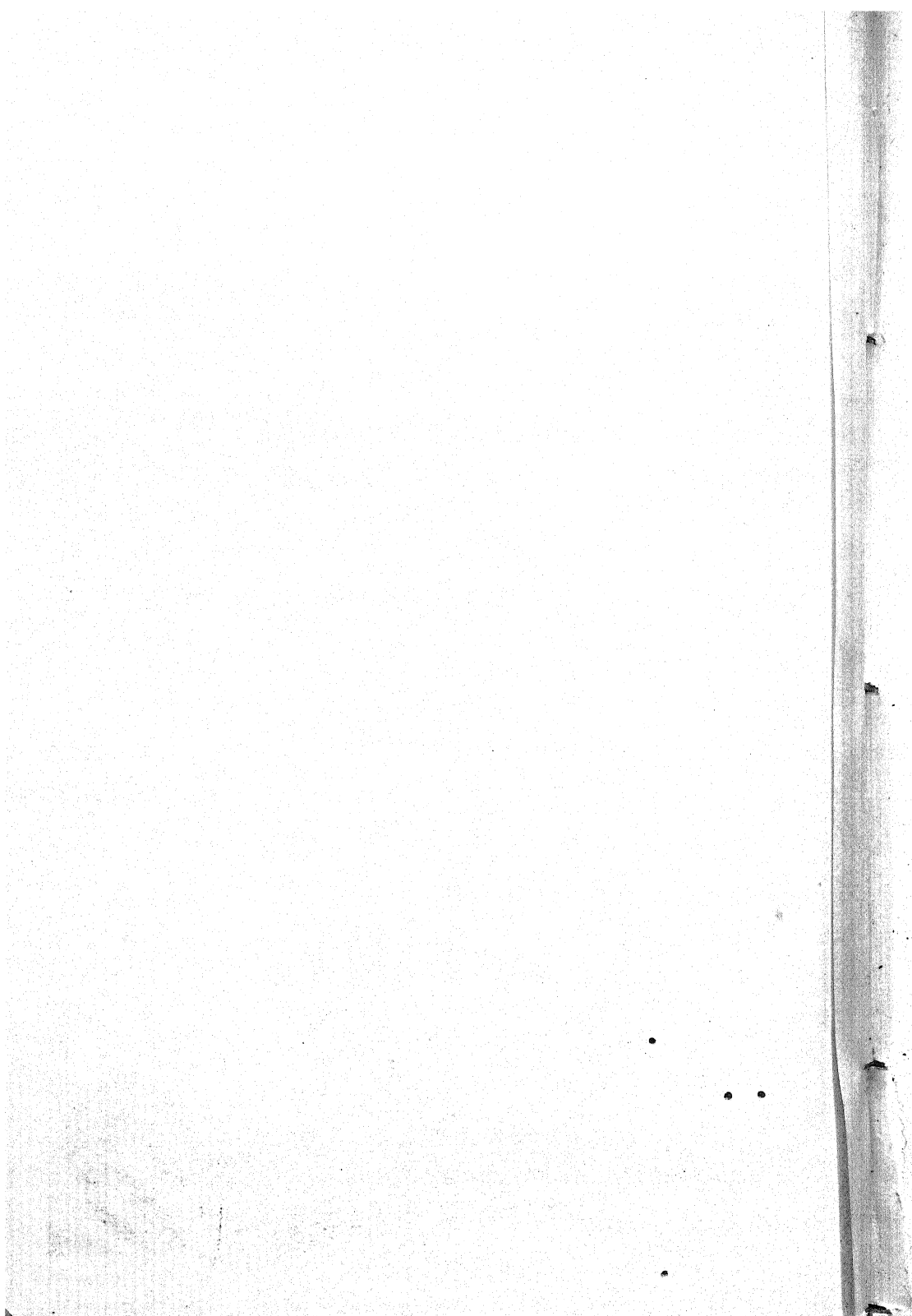
Agrostemma Githago L.

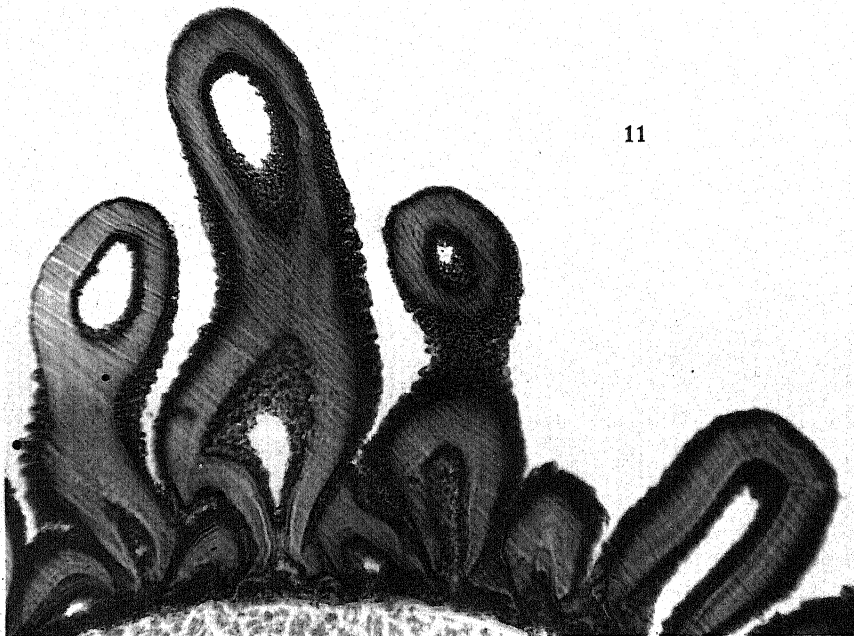
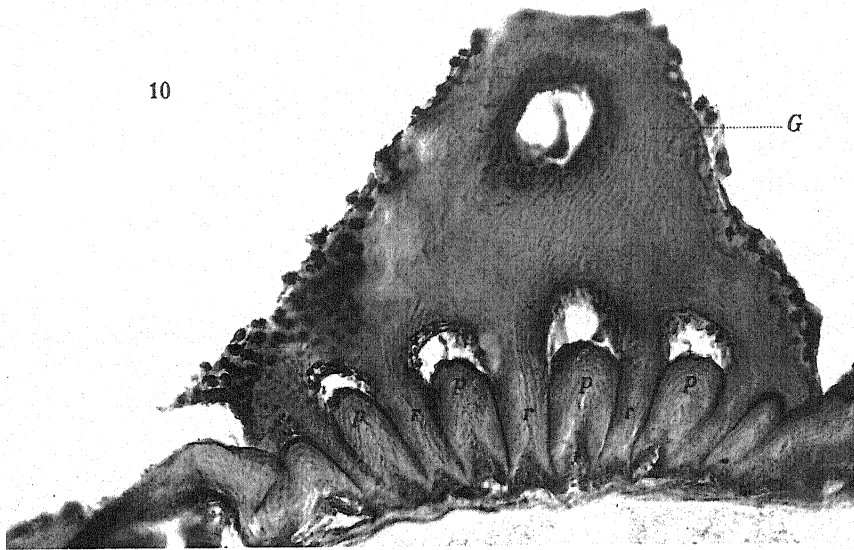




Aucr. phot.

BOUAN del.

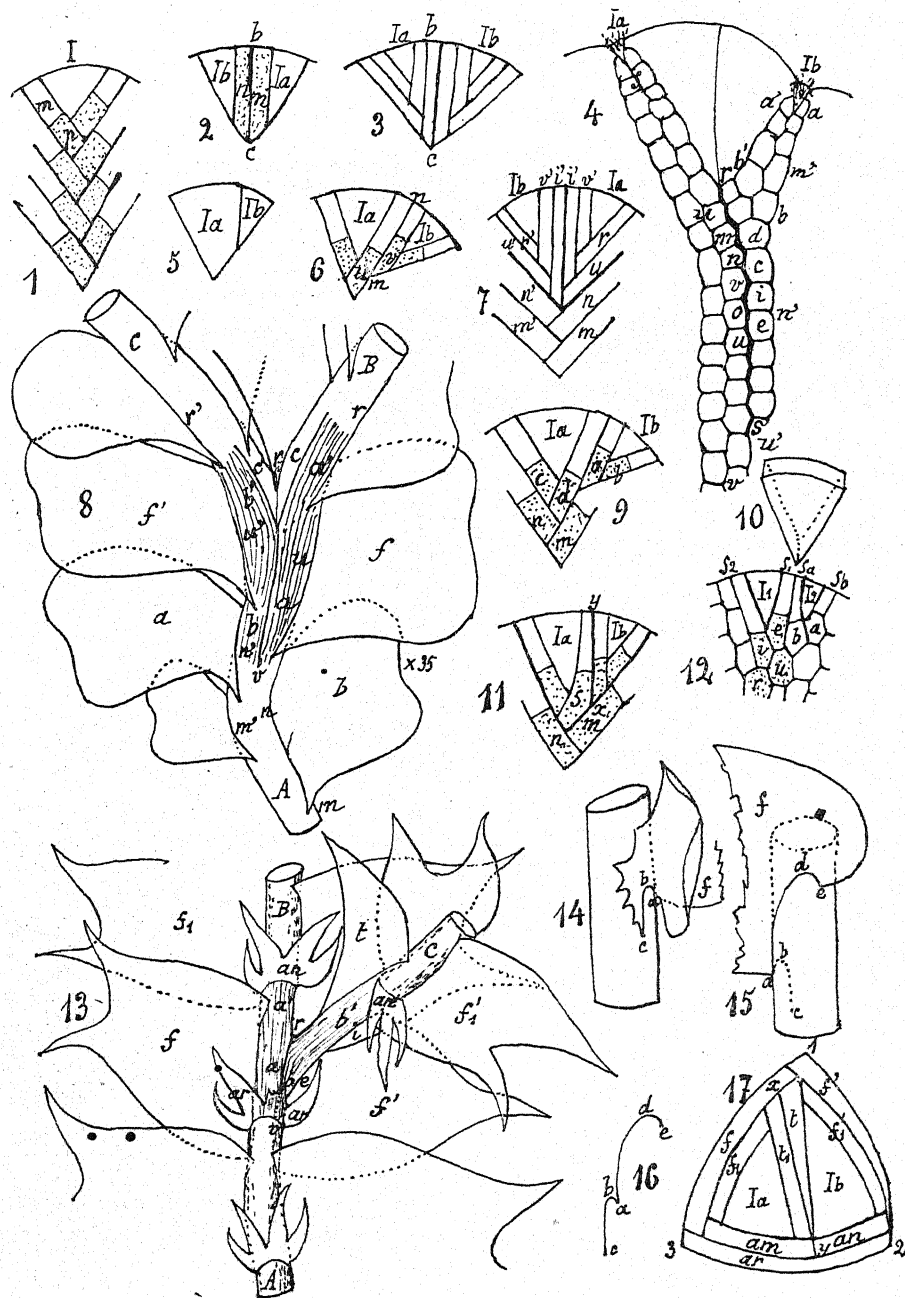




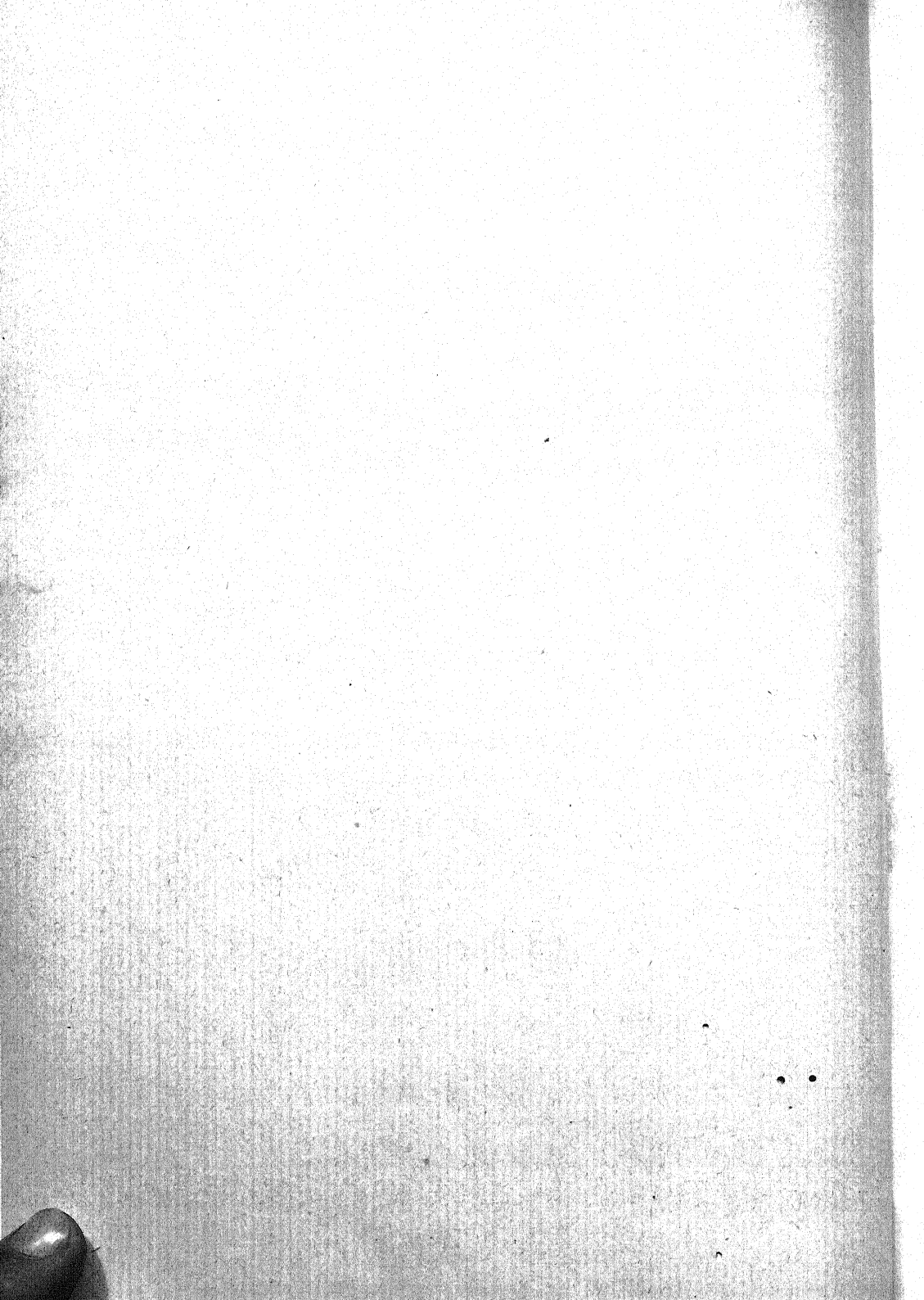
Aucr. phot.

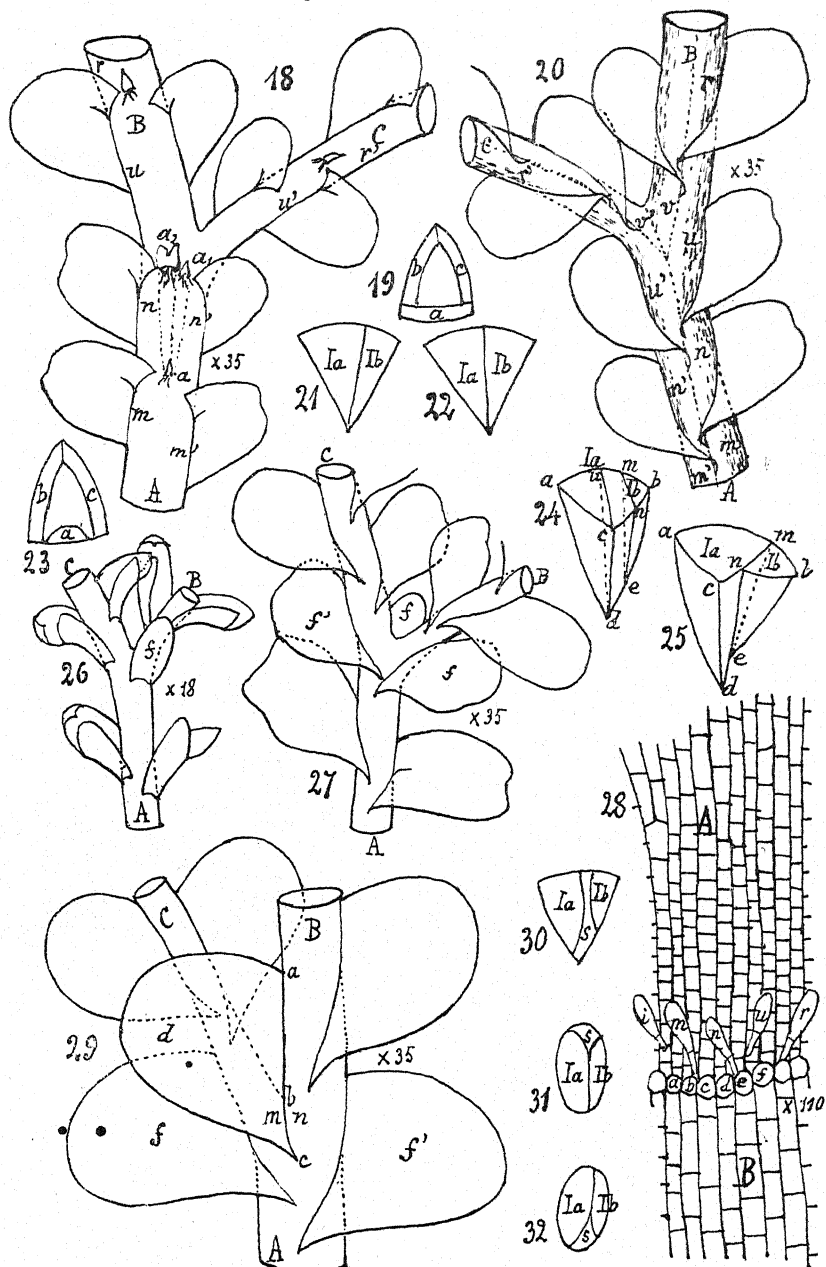
BOUAN del.

Agrostemma bicolor Lind.

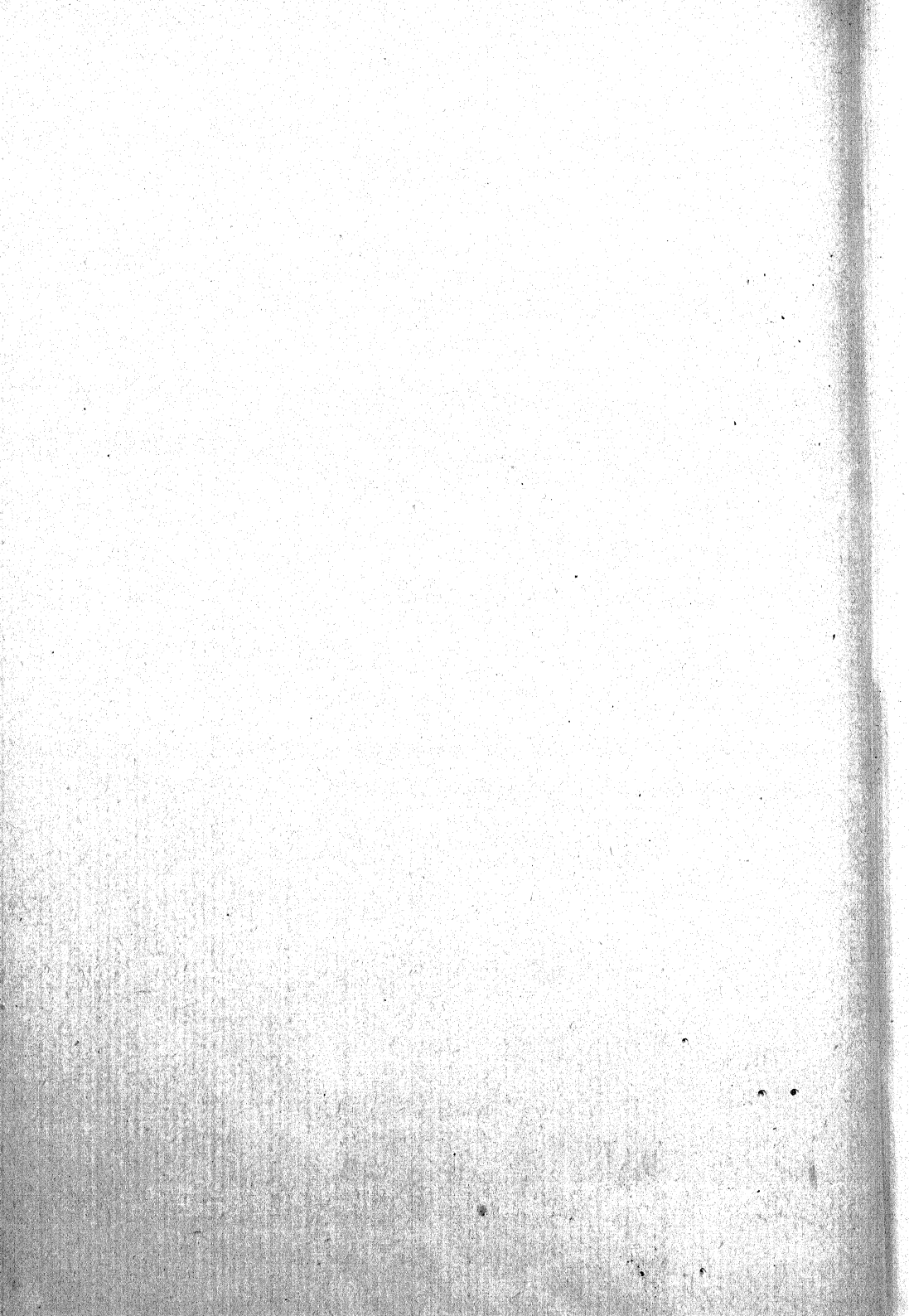


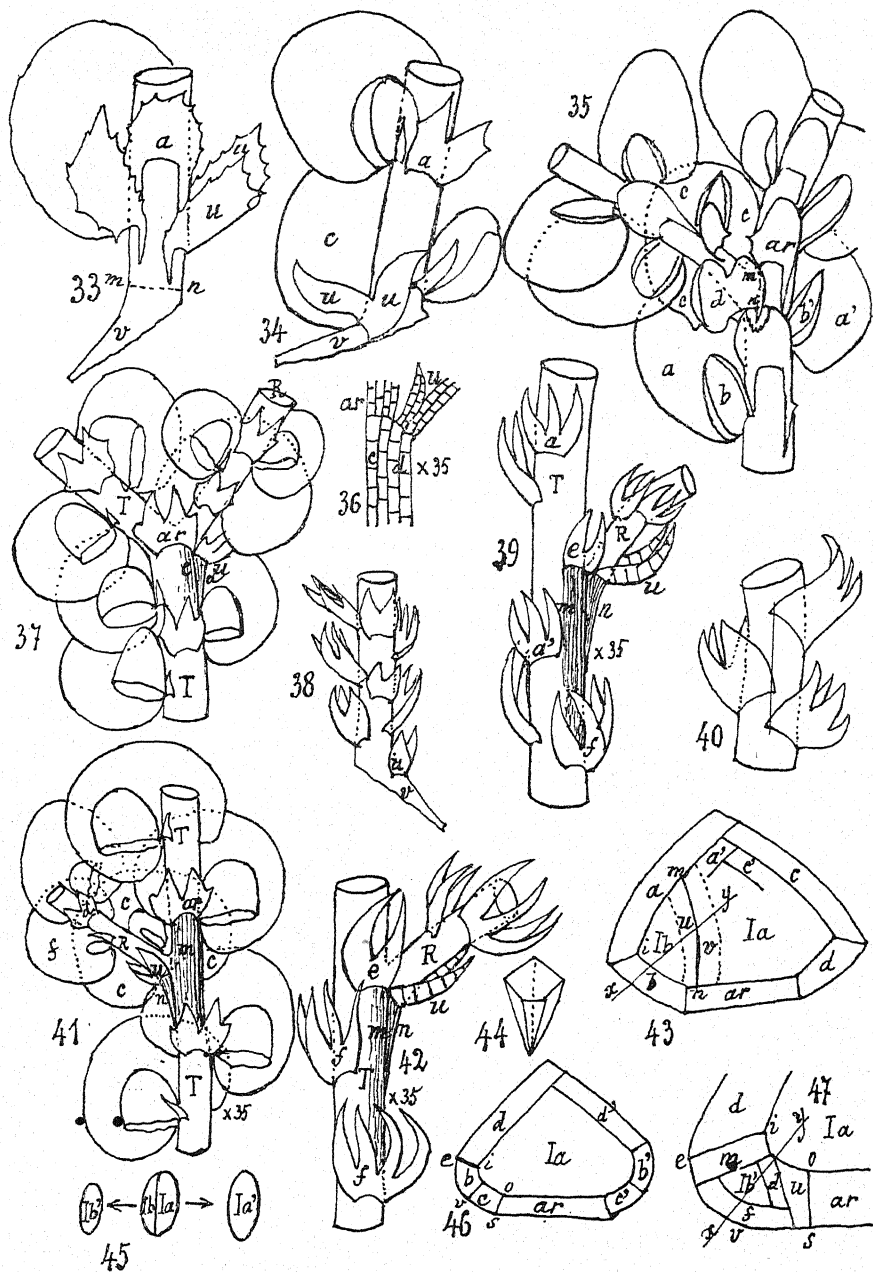
Bifurcations chez les Hépatiques à feuilles.



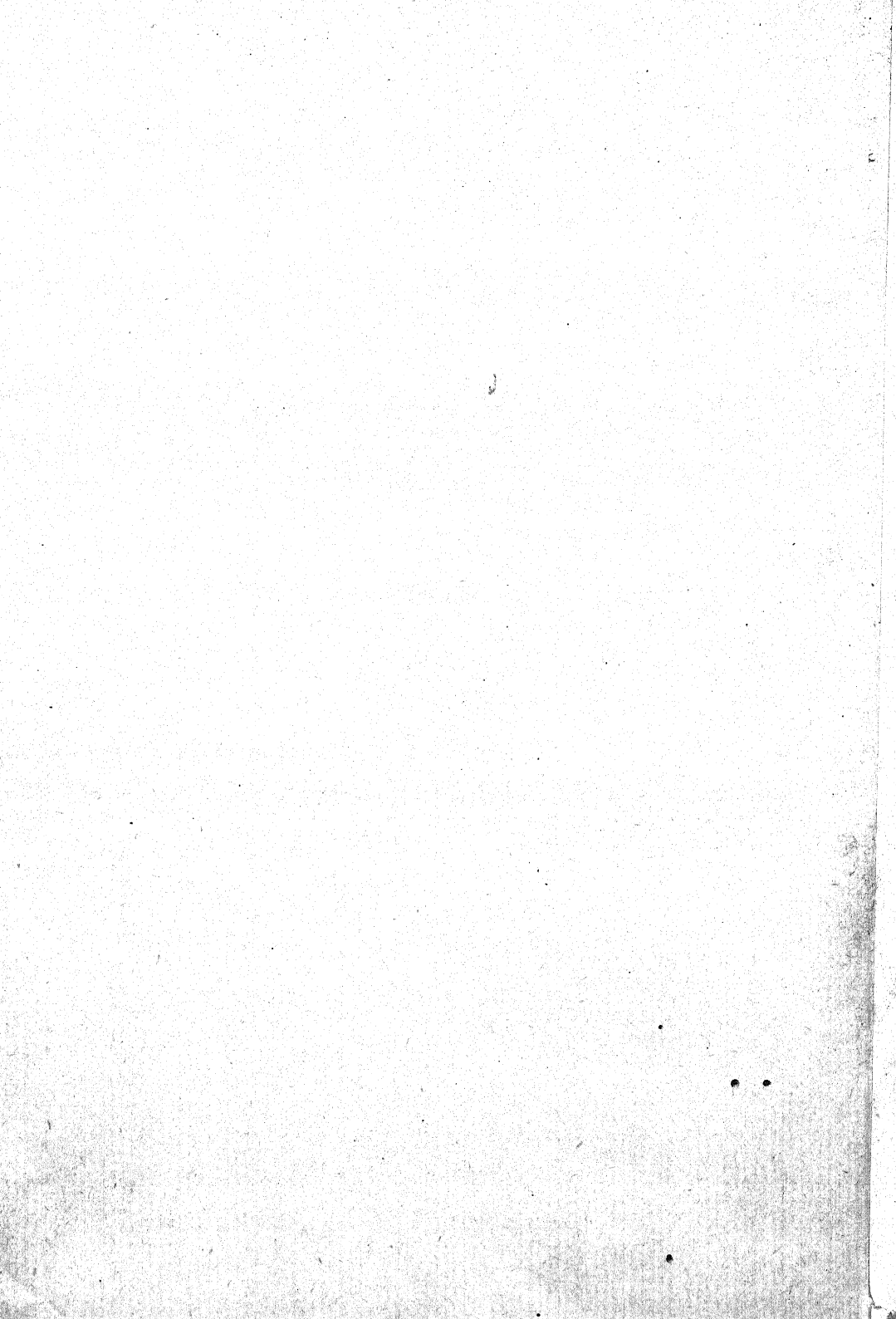


Bifurcations chez les Hépatiques à feuilles.





Bifurcations chez les Hépatiques à feuilles.



CONTRIBUTION
A LA CONNAISSANCE DES POTENTIELS
D'OXYDO-RÉDUCTION PROVOQUÉS
PAR LE
MÉTABOLISME DES BACTÉRIES ACÉTIQUES
par Mlle Marguerite COZIC

INTRODUCTION

Quelques recherches effectuées dans le laboratoire de microbiologie à Delft (1) ont démontré qu'il y a une relation directe entre la valeur du potentiel d'oxydo-réduction qui se manifeste dans le milieu de cellules vivantes et la nature du processus de métabolisme.

Nous avons été incité à étudier la situation analogue chez les bactéries acétiques par le fait essentiel que HOOGERHEIDE avait réussi à montrer, que, dans le cas de la levure, il était possible de trouver un potentiel bien déterminé dans des conditions où le métabolisme était à peu près limité à la respiration. Il nous a paru intéressant d'examiner, si la valeur du potentiel dans le milieu de bactéries acétiques respirant est plus ou moins identique à celle de la levure respirant, et si cette valeur serait ou non en relation avec l'espèce de bactéries envisagées et avec la nature du substrat de la respiration.

Les locutions citées et la monographie récente de WURMSER (2) permettront une connaissance plus parfaite des questions considérées.

(1) B. ELEMA, A. J. KLUYVER und J.W. VAN DALFSEN, *Biochem. Zeitschr.* 270, 317, 1934; A. J. KLUYVER und J.C. HOOGERHEIDE, *Biochem. Zeitschr.* 272, 197, 1934; J.C. HOOGERHEIDE, *Bijdrage tot de kennis van de reactie van Pasteur, Thèse de Doctorat, Delft 1935.*

(2) R. WURMSER, *L'électroactivité dans la chimie des cellules*, Paris 1935.

MÉTHODE

Nous avons employé, pour notre étude, la méthode manométrique bien connue de BARCROFT-WARBURG en utilisant des récipients modifiés par KLUYVER et HOOGERHEIDE pour permettre la mesure simultanée du potentiel d'oxydo-réduction et de l'intensité respiratoire.

Nous avons travaillé avec *Acetobacter rancens*, *A. pasteurianum*, *A. peroxydans*, *A. xylinum*, *A. aceti*, *A. suboxydans* et *A. melanogenum*.

Il nous a paru sage de déterminer les conditions optima de respiration. Nous avons employé la méthode suivante.

Pour la préparation des bactéries on ensemence d'abord sur des plaques de Petri (de 85 cm² environ) 2 à 3 cc. d'une suspension d'une culture pure. Les cultures sont placées pendant quelques jours à l'étude de 25° et les colonies sont frottées doucement avec le doigt pour enlever les corps microbiens sans égratigner la gélose, lavées avec quelques cc. d'une solution-tampon et entraînées dans un tube à centrifuger avec une nouvelle portion de solution-tampon employée pour laver la plaque.

Une heure de centrifugation suffit sauf pour *A. aceti* qui demande de 2 à 3 heures. Le liquide est jeté; le culot bien égoutté et soigneusement délayé à sec sur le verre du tube, est additionné peu à peu de quelques gouttes, puis de 4 à 5 cc. de tampon en tournant et en évitant la formation des grumeaux. Une partie exactement mesurée de cette suspension bien homogène est versée dans une fiole jaugée de 100 cc. remplie d'une solution-tampon à laquelle a été préalablement additionné le substrat de respiration, en général 1% d'alcool éthylique. Une quantité identique introduite dans un creuset de porcelaine et desséchée à l'étude donnera le poids sec de bactéries utilisées.

Pour déterminer l'intensité respiratoire des bactéries 3,6 cc. de la suspension diluée furent versées dans le récipient de l'appareil Warburg dont le volume, exactement mesuré, variait entre 24 et 28 cc. En outre 0,4 cc. de soude 6 N. était introduit dans l'ampoule latérale.

Toutefois nous avons constaté bientôt que la plupart des bac-

téries acétiques dans les conditions de nos expériences, ne produisent pas d'acide carbonique en employant l'alcool éthylique comme substrat. Pour cette raison nous avons donc, au cours des expériences, supprimé la soude et alors la quantité de suspension bactérienne fut de 4 cc.

Toutes les déterminations ont été faites au bain-marie à 30°C.

Il faut ajouter que *A. xylinum* qui s'habille d'une membrane cellulosique (1) a nécessité une technique particulière que nous avons exposé dans un mémoire antérieur (2).

CONDITIONS OPTIMA DE LA RESPIRATION

Il nous a paru nécessaire de déterminer d'abord les conditions optima de la respiration. Les auteurs qui ont antérieurement étudié la respiration des bactéries acétiques, en particulier WARBURG (3), TAMIYA (4), TANAKA (5), WIELAND (6), et BERTHO (7), QUÉRÉ (8), indiquent les conditions de leurs expériences toutefois sans faire un examen critique des facteurs essentiels pour l'obtention d'une respiration optimum.

A priori, il paraissait vraisemblable que l'intensité de respiration (I_{O_2}) fut influencée par les facteurs suivants : âge des cultures, composition du milieu de culture, acidité du milieu d'expérience, concentration et nature du substrat.

En général la vitesse de consommation d'oxygène déterminée pendant une durée de trois heures était à peu près constante.

Age des cultures. — Nous avons d'abord cultivé à 25°C sur un milieu composé d'extrait de levure additionné de 2% gélose et 2% alcool éthylique. Il apparut bientôt évident que les cultures âgées de 2 à 4 jours étaient les plus favorables ; des cultures plus âgées

(1) Y. KHOUVINE, G. CHAMPETIER et R. SUTRA, *C.R.* 194, 208, 1932

(2) M. COZIC. Etude biochimique de *B. xylinum*. Thèse de Doctorat d'Etat, Bordeaux: 1933. *Revue générale de Botanique* 46, 1, 1934. *Annales de Brasserie et de Distillerie*, 32, 136, 1934.

(3) O. WARBURG, E. NEGELEIN et E. HAAS. *Biochem. Z.* 762, 237. 1933. O. WARBURG, *Biochem. Z.* 266, 1. 1933.

(4) H. TAMIYA et K. TANAKA. *Acta Phytochimica*, 5, 167. 1931.

(5) K. TANAKA, *Acta Phytochimica*, 5, 239, 1931.

(7) A. BERTHO. Die Essiggärung, Ergebnisse der Enzymforschung. Band 1.

(8) H. QUÉRÉ. *C. R. Ac. Sc.* 192, 1404, 1931 ; 193, 444, 1931. *C. R. Soc. Biol.* 112, 1398, 1933.

respirent beaucoup moins. Nous avons travaillé généralement avec des cultures de 66 heures.

Composition du milieu de culture. — L'intensité respiratoire des bactéries cultivées sur le milieu que nous avons indiqué, ne nous donnant pas satisfaction (Io_2 optima ± 300 au lieu d'environ 1.000 indiqué par les différents auteurs) nous avons étudié dans de nombreuses expériences l'influence des variations de milieu de culture. Le milieu s'acidifiant rapidement, il nous a paru logique d'ajouter 2% de craie, procédé qui a grandement amélioré l'intensité respiratoire. Nos chiffres étant encore inférieurs à ceux de WARBURG il nous a paru utile d'employer le milieu indiqué par F. KUBOVITZ et E. HAAS (1) : 3 1/2 litres de « Bouillon » de la composition suivante : 1% extrait de viande (Liebig), 1% peptone, 3% glucose, 4% alcool éthylique pour 1/2 litre de moût de bière et 30 grammes de gélose par litre. Les cultures faites sur ce milieu nous ont donné d'excellents résultats, mais nous avons cherché à simplifier la composition de ce milieu assez complexe. En variant la composition du milieu, nous avons rapidement constaté que la présence simultanée de l'alcool et du glucose était nécessaire pour assurer une bonne intensité respiratoire. D'autre part nos expériences nous ont montré qu'il était possible d'employer un milieu beaucoup plus simple au point de vue d'aliment azoté. C'est ainsi qu'un milieu composé d'extrait de levure additionné de 2% d'alcool éthylique, 2% de glucose, 2% de craie et 2% de gélose nous a donné pleine satisfaction. C'est ce milieu qui a été employé dans les expériences ultérieures. Toutes celles-ci ont été effectuées à 30°.

Le Tableau I donne un résumé succinct de ces recherches.

Acidité du milieu d'expérience. — Dans un travail antérieur sur *A. xylinum* nous avons déjà constaté que la respiration de cette bactérie acétique dépend du pH et que l'optimum est voisin de 5,5, pH élu aussi par WARBURG pour ses expériences avec *A. pasteurianum*. La comparaison des intensités respiratoires dans un

(1) F. KUBOVITZ et E. HAAS. *Biochem. Z.* 255, 247, 1932.

(1) Les poids de bactéries sont exprimés en mmgr. Les intensités respiratoires indiquées correspondent, aux quotients $\text{Io}_2 = \frac{\text{mm}^3 \text{ d'oxygène consommés.}}{\text{mgr. de bactéries sèches}}$

TABEAU I .
INFLUENCE DU MILIEU SUR LA RESPIRATION

Date	<i>Acetobacter rancens</i>				<i>A. pastorianum</i>		<i>Acetobacter peroxydans</i>			
	5/2	28/2	8/4	4/3	1/2	18/3	21/1	24/1	9/5	10/5
Poids sec des bactéries.	1,5	0,5	0,6	0,7	0,3	1	5	2,5	0,3	0,4
Milieu Kubovitz et Haas.		380,470	673,486				130,181	151,176		
Milieu Kubovitz et Haas sauf alcool.		162	383			101				
2 % alcool	441,157	350	227		0,0	0				
2 % criste.	744				192,219					
2 % glucose.				781,790		861			1235 1420	950 970

milieu à pH = 6,0 (tampon de citrate de SÖRENSEN) et dans un milieu à pH = 5,5 (tampon : 8 parties d'acétate de sodium m/10 pour une partie d'acide acétique m/10) nous a montré la supériorité de ce dernier milieu (Voir Tableau II), qui, par suite, a été élu définitivement pour les recherches systématiques.

TABLEAU II.

INFLUENCE DU Ph SUR LA RESPIRATION

Date	<i>A. rancens</i>	<i>A. rancens</i>	<i>A. pasteur.</i>	<i>A. aceti</i>
	6/3	8/3	11/3	8/3
Poids sec de bactérie.	0,7	0,9	0,5	1
pH 4,5.	75			
pH 5,6.	95	55	224	152
pH 6.		45	143	98

Température : 30°

Dans toutes ces recherches le pH a été contrôlé à l'aide d'un potentiomètre Tinsley au moyen d'une électrode de verre (1).

Concentration et nature du substrat. — Nous avons en premier lieu vérifié que la solution tampon seule ne permettrait aucune respiration mesurable. Quelques expériences nous ont convaincu que l'intensité respiratoire était presque la même avec le glucose ou avec l'alcool éthylique. En outre les concentrations de 1, 2, 3 ou 4% d'alcool donnent des résultats à peu près identiques. (Voir Tableau III) et nous avons, dans toute la série des expériences avec l'alcool éthylique employé une concentration de 1%. Dans les expériences avec glucose nous avons utilisé 2% afin de nous placer dans des conditions identiques à celles des autres expérimentateurs.

(1) Pour une description de l'installation : voir B. ELEMA, *Bepaling van de oxydatie-reductiepotentiaal in bacteriencultures, etc.*, Delft, 1932.

TABLEAU III

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN ALCOOL SUR
LA RESPIRATION

Date	<i>Acetobacter rancens</i>
	8/4
Poids sec de bactéries.	0,3
1 % alcool.	781
2 % alcool.	790
3 % alcool.	678
4 % alcool.	670

Température : 30 %

INFLUENCE DE LA QUANTITÉ DE BACTÉRIES
SUR L'INTENSITÉ RESPIRATOIRE

Au cours des expériences exposées ci-dessus nous avons rapidement constaté l'influence remarquable de la quantité des bactéries utilisées sur l'intensité respiratoire (I_{O_2}). Plus le poids sec des bactéries utilisées dans chaque récipient était élevé et plus le I_{O_2} était faible, comme l'indique le tableau IV. Il est évident que cette particularité est une conséquence directe du fait que la méthode manométrique enregistre seulement la vitesse du processus respiratoire dans des conditions pour lesquelles la vitesse de saturation de la suspension bactérienne avec de l'oxygène surpasse la vitesse de la consommation de gaz par les bactéries. Aussitôt que cette dernière vitesse dépasse une certaine limite la vitesse de consommation d'oxygène dépend uniquement de la vitesse du processus physique de l'absorption de l'oxygène par le milieu, qui est influencé à son tour par la vitesse d'agitation des récipients dans le thermostat. Etant donné l'impossibilité d'augmenter indéfiniment celle-ci, il sera évident qu'il est indispensable de limiter le nombre de bactéries par unité de volume afin d'obtenir une respiration optimum. D'où il résulte qu'il est nécessaire de travailler dans une région de concen-

TABLEAU IV
INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN BACTÉRIES SUR LA RESPIRATION

pH 5,4 alcool : 1 % cultures de 3 jours.	<i>A. rancens</i>	<i>A. rancens</i>	<i>A. peroxydans</i>	<i>A. peroxydans</i>	<i>A. melanogenum</i>
Date.	5/4	6/2	9/5	10/5	7/5
de 0,075 à 0,1.			1235		410
de 0,1 à 0,15.				970	383
de 0,15 à 0,30.	749,809		1420	950	
de 0,30 à 0,6.	416	496	690	575	311
de 0,6 à 1.			376	278	
de 1 à 10.	55	217			
21,6.		15			

tration où de petites variations de celle-ci n'influencent plus la valeur du I_{O_2} .

Comme l'indiquent les expériences, cette zone est située, dans les conditions expérimentales actuelles, entre 0,3 mgr. et 0,6 mgr. de bactéries sèches par récipient, soit d'environ 10 mgr. par 100 cc.

COMPARAISON DE L'INTENSITÉ RESPIRATOIRE DE DIVERSES ESPÈCES DE BACTÉRIES ACÉTIQUES

En tenant compte de toutes les précautions indiquées ci-dessus nous avons déterminé l'intensité respiratoire optimum des espèces étudiées. Les résultats sont résumés dans la liste suivante :

<i>A. peroxydans</i>	\pm 1.200.
<i>A. rancens</i>	\pm 800.
<i>A. pasteurianum</i>	\pm 800.
<i>A. aceti</i>	\pm 600.
<i>A. melanogenum</i>	\pm 400.
<i>A. suboxydans</i>	\pm 250.

Il ne faut pas attacher à ces chiffres une valeur absolue, ils ne sont valables que pour les conditions expérimentales décrites et pour une durée d'expérience de 3 à 4 heures.

LES POTENTIELS D'OXYDO-RÉDUCTION QUI SE MANIFESTENT DANS LES SUSPENSIONS DES BACTÉRIES ACÉTIQUES

Comme il a été indiqué dans l'introduction, il nous a paru intéressant de déterminer si le métabolisme des bactéries acétiques donne lieu à l'apparition d'un potentiel d'oxydo-réduction bien défini dans le milieu de suspension cellulaire. Nous avons étudié cette question dans les conditions optima pour la respiration. Il faut remarquer tout d'abord qu'au début de l'expérience le milieu des cellules ne contient aucun système réversible d'oxydo-réduction, ce qui est pourtant indispensable pour rendre possible la mesure des potentiels. Toutefois les cas des bactéries dénitrifiantes et de la levure montrent que, même dans des milieux d'une composition chimique extrêmement simple, après une courte durée, des poten-

TABLEAU V
ÉTABLISSEMENT DU POTENTIEL D'OXYDO-RÉDUCTION

	<i>A. rancens</i>	<i>A. past.</i>	<i>A. aceti</i>	<i>A. peroxy</i>	<i>A. melanog.</i>	<i>A. suboxy.</i>
Date	20/5	11/3	19/3	9/5	7/5	2/2
Poids sec de bactéries	0.58	0.53	0.3	0.31	0.3	0.3
5 m.	+383	+358	+381	+320	+339	+353
1 h.	+379	+346	+370	+334	+324	+346
2 h.	+376	+346	+361	+340	+324	+346
3 h.	+372	+347	+350	+331	+324	+341
4 h.	+375	+347	+354	+333	+324	+342

tiels définis se manifestent, ce qui prouve qu'un système réversible échappé des cellules se trouve d'ores et déjà dans le milieu.

Nous avons recherché s'il en est de même pour les bactéries acétiques. Les résultats de ces expériences pour les diverses espèces étudiées sont réunis dans le Tableau V.

Il résulte de ces chiffres que, dans les conditions des expériences, il se manifeste un potentiel à l'électrode de platine dorée qui, dans les suspensions de *A. rancens*, *A. pasteurianum*, *A. aceti*, *A. peroxydans*, est voisin de 350 millivolts par rapport à l'électrode normale d'hydrogène à un pH = 5,5 ce qui correspond à un $rH_2 = 23$, tandis que dans les suspensions de *A. melanogenum* et *A. suboxydans* cette valeur est d'environ 300 millivolt, correspondant à un $rH_2 = 21$. Tous les tableaux donnent ces valeurs en millivolts.

Il semble permis de conclure que les potentiels mesurés sont plus ou moins déterminés par la nature du processus de métabolisme prépondérant qui, sous les conditions expérimentales élues, est la respiration. Il est bon de remarquer l'identité des chiffres obtenus avec ceux mesurée par HOOGERHEIDE pour la levure dans les conditions où le métabolisme de cet organisme est aussi à peu près limité à la respiration.

Toutefois nous avons constaté bientôt qu'une augmentation du nombre des bactéries dans la suspension, diminuant comme nous l'avons déjà indiqué l'intensité respiratoire (Io_2), abaisse corrélativement le potentiel d'oxydo-réduction dans le milieu.

Le tableau VI donne une bonne démonstration de ce phénomène.

En considération des résultats de HOOGERHEIDE sur les relations entre les potentiels et la nature des processus de métabolisme, il était désirable de conclure à l'existence d'autres réactions chimiques dans les bactéries acétiques placées dans des conditions qui déterminent un Io_2 inférieur à l'optimum. Il était séduisant de rapprocher cette situation des résultats obtenus par NEUBERG et SIMON (1) qui semblent prouver l'existence d'un véritable système zymasique dans les bactéries acétiques. Il paraissait possible que ces bactéries contiennent des hydrates de carbone de réserve qui subissent une fermentation alcoolique aussitôt qu'une aération insuffisante des cellules abaisse la respiration.

((1) C. NEUBERG et E. SIMON, *Biochem. Z.* 179, 443., 1926.

Dans l'intention de vérifier cette hypothèse nous avons étudié le métabolisme anaérobie de plusieurs espèces de bactéries acétiques (*A. rancens*, *A. pasteurianum*, *A. peroxydans*) à l'aide de la méthode manométrique. Afin de nous rendre indépendant de la présence variable de substances de réserve, nous avons employé pour ces expériences notre milieu tampon habituel additionné de 2% glucose. Après avoir introduit la suspension bactérienne dans le récipient, l'appareil fut rempli d'azote, rigoureusement débarrassé des moindres traces d'oxygène, par passage dans un tube garni de cuivre réduit chauffé à 300°C. En cas de fermentation, il fallait s'attendre à un dégagement d'acide carbonique et, pour bien mettre en évidence cette production, les expériences furent toutes effectuées en double série : en présence et en absence de soude dans l'ampoule latérale.

TABLEAU VII.

MESURE DES ÉCHANGES GAZEUX DANS L'AIR
ET EN ATMOSPHERE D'AZOTE

Date	<i>A. rancens</i>	<i>A. pasteurianum</i>			<i>A. peroxydans</i>
	19/7	9/7	13/7	17/7	15/7
Poids sec de bactéries.	12	2,5	13	16	0,43
air NaOH.	77	28	4,9	73	955
air sans NaOH.	73	43	5	71	1050
azote NaOH.	0	0	0	0	0
azote sans NaOH.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Glucose 2%.

• Comme il découle du tableau VII, nous n'avons jamais pu constater la moindre trace de fermentation, quoique nous eussions augmenté considérablement la quantité des bactéries pour nous rapprocher autant que possible des conditions de NEUBERG et SIMON. Ces expériences nous ont montré en même temps, que le potentiel du milieu sous ces conditions strictement anaérobies effectuées

avec de notables quantités de bactéries, est encore considérablement plus bas que dans les expériences analogues aérobies.

Puisqu'il y a pas de fermentation dans les conditions de nos expériences, il paraît vraisemblable, que dans les bactéries acétiques insuffisamment aérées, il y a d'autres processus de métabolisme (autolyse ?) qui sont responsables de l'abaissement du potentiel dans ces conditions.

Des travaux ultérieurs permettront sans doute d'élucider cette question.

Enfin nous avons fait quelques observations sur l'influence de l'addition de certains indicateurs d'oxydo-réduction sur la valeur des potentiels dans le milieu des cellules respirantes. Comme il est démontré par le Tableau VIII, il résulte de ces expériences qu'en particulier l'addition de phénol-indophénol ou de bleu de méthylène produit un abaissement du potentiel, les colorants étant partiellement réduits dans ces conditions. Ce fait qui demande encore une étude plus systématique, également avec des colorants ayant d'autres valeurs de E_0 , semble indiquer qu'il faut se garder de conclure que le potentiel d'oxydo-réduction mesuré dans le milieu de cellules en plein métabolisme est une indication sur la limite du pouvoir réducteur de ces cellules.

Ce travail a été effectué au laboratoire de microbiologie de l'Université technique de Delft ; je prie M. le P^r KLUYVER, directeur, d'accepter tous mes remerciements pour ses conseils d'une inépuisable bienveillance. L'exécution du travail a été rendue possible par une bourse à l'Université française d'Amsterdam.

Laboratoire de Microbiologie de la Technische
Hoogeschool de Delft (Hollande) et
Institut français d'Amsterdam.

RECHERCHES
PHYSIOLOGIQUES ET CYTOLOGIQUES
SUR
QUELQUES ESPÈCES DU GENRE *PYTHIUM*
par M. R. K. SAKSENA

INTRODUCTION

Avant 1885, quelques botanistes seulement, tels PRINGSHEIM, DE BARY, MARSHALL WARD, ont étudié, sur le vivant, les *Pythium*. C'est à FISCH, en 1885, que l'on doit la première étude du noyau chez ces Champignons ; c'est lui, en effet, qui décrit le processus d'une fusion nucléaire collective à l'intérieur de l'oogone. En 1894, P.-A. DANGEARD a montré que les oogones et les anthéridies de *Pythium proliferum* sont multinucléés. Plus tard, TROW (1901) a donné une description détaillée des phénomènes cytologiques chez *Pythium ultimum*, accompagnée d'une étude biologique de cette espèce. C'est dans cette même année que simultanément, mais indépendamment, MIYAKE a fait connaître les phénomènes de fécondation chez *P. de Baryanum* Hesse. Beaucoup plus tard, en 1915, une autre espèce, *P. aphanidermatum*, a été étudiée par EDSON et plus récemment encore (1927) PATTERSON a étudié l'oogenèse chez *P. torulosum*.

Pour compléter dans une certaine mesure les recherches de nos devanciers, nous nous sommes proposé de faire une étude cytologique et physiologique de diverses espèces du genre *Pythium* non examinées jusqu'ici et, dans ce but, nous nous sommes adressé aux *Pythium deliense* Meurs, *P. de Baryanum*, *P. mamillatum* Meurs et *P. indigoferae* Butler, mais c'est au premier, le *P. deliense*, que nous avons consacré le plus d'attention.

* * *

Avant d'exposer le résultat de nos recherches, nous voudrions dire, à tous ceux qui nous y aidèrent, notre reconnaissance.

M. le Pr GUILLIERMOND, Membre de l'Institut, nous a accueilli une première fois dans son laboratoire en 1931 avec la plus grande obligeance. Contraint par la maladie, nous avons regagné Allahabad mais il n'a cessé, par lettre, de nous donner tous les conseils utiles pour poursuivre l'étude dont il nous avait proposé le sujet. A notre récent retour en France, il nous a réservé le même accueil sympathique d'autrefois et il a bien voulu examiner en détail les résultats de notre travail. Qu'il nous permette de lui dire quelle gratitude nous lui avons et quelle reconnaissance nous lui garderons pour ses conseils, son enseignement et son inépuisable bienveillance à notre égard.

M. le Pr MOLLIARD, Membre de l'Institut, a accepté de publier ce travail dans la *Revue générale de Botanique*. Cette acceptation a été pour nous un honneur dont nous lui resterons reconnaissant.

Notre ami, M. A. EICHHORN, a bien voulu se charger de la traduction de notre travail et, ensuite, de la correction des épreuves. Il nous a aidé de maints conseils au cours de cette rédaction, de même qu'il n'a cessé, de 1931 à maintenant, de nous encourager à persévérer dans nos recherches. Il sait la reconnaissance que nous lui en gardons ; il nous permettra, cependant, de la lui exprimer ici.

M. le Dr J. H. MITTER, directeur du Service botanique de l'Université de Allahabad, a toujours été pour nous extrêmement bienveillant, il nous a sans cesse prodigué toutes les facilités matérielles pour poursuivre notre étude et son appui auprès des autorités qualifiées pour nous permettre de séjourner en France nous a été très utile. Qu'il veuille bien trouver ici l'assurance de notre respectueuse reconnaissance.

A des titres divers, M. le Dr S. DUTT de Allahabad, Miss WESTERDIJK et M. le Dr MEURS nous ont rendu d'importants services que nous n'oublierons pas.

PLAN DU TRAVAIL

Ce travail est divisé en deux parties, l'une d'ordre physiologique, l'autre d'ordre cytologique. Dans la première nous avons envisagé la croissance des *Pythium* sur divers milieux et dans des conditions différentes, en vue de déterminer où se plaçait, dans chaque cas, le développement maximum, qu'il s'agisse, par exemple, de la température, du pH, etc. Les mêmes recherches ont été effectuées, en fai-

sant varier les différents facteurs, susceptibles de l'influencer, à propos de la formation des organes sexuels. Nous avons ensuite déterminé le pouvoir hydrolytique des Champignons et, en prenant plus spécialement *P. deliense* pour objet d'étude, nous avons examiné en détail la germination des sporanges et la formation des zoospores. On trouvera, en tête des chapitres de cette première partie, quand il y avait lieu de le donner, un aperçu des travaux antérieurs, soit qu'ils aient trait directement aux *Pythium*, soit qu'ils se rapportent à d'autres Champignons inférieurs, mais présentent un intérêt de comparaison avec nos propres résultats.

Dans la seconde partie de ce travail, nous avons envisagé la cytologie de ces Champignons, vitalement et après fixation, cette étude, pour certains *Pythium*, n'ayant jamais été entreprise. Nous avons examiné les éléments du cytoplasme : chondriome et système vacuolaire, les noyaux, l'oogenèse et la fécondation, particulièrement chez *P. deliense*. A ce propos nous avons rappelé au début, succinctement, les travaux d'ordre cytologique effectués déjà sur ces Champignons, nous avons discuté ensuite, en détail, les travaux de nos prédécesseurs sur chaque point particulier, en rappelant aussi les idées générales émises par les cytologistes sur ces questions. Nous avons terminé ces chapitres par une discussion générale à propos de la cytologie des Champignons, que nous avons fait suivre d'une étude sur la position systématique et la nomenclature des *Pythium*.

Dans un dernier chapitre, enfin, nous avons groupé, brièvement résumés, les principaux résultats de notre travail.

MATÉRIEL

Les cultures de *Pythium deliense* ont été obtenues en novembre 1931 du Centraalbureau voor Schimmelcultures de Baarn (Hollande). Depuis cette époque nous l'avons appelé (SAKSENA 1932) *Pythium de Baryanum* Hesse. Ce Champignon avait été isolé par MEURS à Delli (Sumatra) sur des plants de Tabac et de 1930 jusqu'en octobre 1933 catalogué sous ce dernier nom. En octobre 1933, MEURS examina à nouveau diverses cultures de *Pythium* à Baarn et constata que ses propres cultures renfermaient une nouvelle espèce qu'il dénomma *Pythium deliense* MEURS (1934).

Comme *Pythium deliense* est une nouvelle espèce récemment

décrite, et dont la description ne se rencontre que dans le travail de MEURS, il ne nous paraît pas inutile d'en reproduire ici la diagnose (MEURS, page 179, 1934) : Hyphes hyalins, à contenu granuleux à l'état jeune, abondamment et irrégulièrement ramifiés, dont le diamètre varie de $2,6$ à 8μ 6 . Mycélium aérien faiblement développé. Sporangies terminaux, rarement intercalaires, pouvant atteindre 210μ de long, de diamètre variable, mais toujours plus grands que les hyphes parents. Tube germinatif le plus souvent terminal, plus rarement latéral, long ou court ; zoospores au nombre de 3 à 25 et peut-être davantage, réunies en une vésicule réniforme qui, après s'être arrondie, peut atteindre de 8 à 12μ de diamètre. Oogones terminaux globuleux de 15 à $23,1\mu$ de diamètre, le plus souvent entre $16,1$ et 20μ , moyenne $18,2$. Anthéridie simple (rarement au nombre de 2 sur un oogone) intercalaire ou terminale, le plus souvent filamenteuse avec un renflement latéral, longueur de 12μ 8 à 27 (le plus souvent $14,1-20,3$), largeur 4μ 7 à $15,5$ (le plus souvent $8,1-11,4$). L'anthéridie est ordinairement dressée, le rameau oogonial, qui dérive de la branche anthéridienne, est fortement incurvé vers l'anthéridie. Assez rarement les hyphes porteurs de ces deux organes sont des branches parallèles d'un même hyphe de fort diamètre. Oospores ramassées ne remplissant pas les oogones et variant de 12μ 5 à $17,5$ de diamètre, le plus souvent $13,7-16,2$, moyenne $14,8$, avec une membrane de 0μ 9 à $2,2$ d'épaisseur, le plus souvent $1,3-1,8$, moyenne $1,62$ et un globule de réserve de 6 à 10μ de diamètre, le plus souvent $7,3-8,2$, entouré d'une couche granuleuse de protoplasme dans laquelle on distingue un corps réfringent.

Les autres *Pythium* étudiés ici proviennent également de Baarn.

LES FIXATEURS ET LA FIXATION

Nous avons essayé un assez grand nombre de fixateurs (1) et, principalement, pour l'étude du mycélium. Pour l'examen des

(1) Les formules des liquides fixateurs utilisés sont les suivantes

Liquide de Flemming faible : pour 20 cm^3 d'eau distillée :

Acide chromique à $0,4\%$ 15 cc.

Acide osmique à 2% 4 cc.

Acide acétique glacial..... 1 cc.

durée de la fixation 24 heures.

noyaux nous nous sommes adressé au mélange faible de Flemming qui nous a, de beaucoup, donné les meilleurs résultats. Comparativement nous avons utilisé les liquides de Bouin, de Davis (1903), de Claussen (1908), de Trow (1904), de Merkel et, enfin, celui de Smith (1923) qui n'est autre qu'une modification de celui de Merkel. Pour l'étude du chondriome nous avons eu évidemment recours au liquide de Regaud et au mélange de Regaud-Tupa. Comparativement nous avons employé le liquide de Lenhossek (1) qui, bien que n'étant

(1) Liquide de Bouin : formol du commerce : 10 cc.

Solution saturée d'acide picrique... 30 cc.

Acide acétique glacial..... 2 cc.

durée de la fixation 24 heures.

Liquide de Davis :

Acide chromique à 0,25 %

Acide acétique à 0,1 %

fixation 24 heures et lavage comme après liquide de Flemming faible.

Liquide de Claussen :

Acide chromique à 0,5 %

Acide acétique à 1 %

même traitement que précédemment.

Liquide de Trow :

Acide chromique à 0,7 %

Acide acétique à 0,3 %

même traitement que précédemment

Liquide de Merkel :

Acide chromique à 1 %..... 1 cc.

Chlorure de platine à 1 %..... 1 cc.

Eau distillée..... 6 cc.

même traitement que précédemment.

Liquide de Merkel modifié par Smith (1923).

Acide acétique à 5 %..... 20 cc.

Chlorure de platine à 1 %..... 1 cc.

Acide chromique à 1 %..... 2 cc.

fixation pendant 24 heures à froid et pendant 6 heures à chaud (70°C).

Lavage 24 heures à l'eau courante.

Pour le chondriome nous avons utilisé le liquide de Regaud : bichromate de K, 80 cc., formol neutre 20 cc. Fixation pendant 4 jours, ensuite postchromisation par le bichromate de K à 3 ou 5 % pendant 7 à 15 jours, lavage 24 heures.

Le liquide de Regaud-Tupa, nitrate d'urane 1 gr., formol neutre 20 cc., bichromate de K 3 % 80 cc., fixation 24 heures.

Liquide de Helly : bichromate de K 2 gr. 5, bichlorure de mercure 5 gr., eau distillée 100 cc. A cette solution on ajoute, pour 9 cc., 1 de formol neutre au moment de l'emploi. Fixation de 8 à 12 heures et postchromisation, dans une solution saturée de bichromate de K à 40°, pendant 48 heures. Lavage 24 heures

Liquide de Lenhossek. Bichlorure de mercure à 6 %, 75 cc., alcool absolu 20 cc., acide acétique 3 cc., fixation et ensuite lavage de 24 heures.

Le sublimé formol : solution saturée de sublimé 80 cc., formol neutre 20 cc. Fixation 8 à 24 heures et postchromisation dans le bichromate de K à 5 % pendant 2 à 7 jours, lavage 24 heures à l'eau courante.

pas un fixateur mitochondrial, s'est montré capable, dans ce cas particulier, de conserver le chondriome (cf. page 67), comme aussi le sublimé-formol ; mais c'est incontestablement le liquide de Helly postchromisé qui nous a donné les résultats les meilleurs.

Pour l'examen des organes sexuels, et spécialement de leurs noyaux, c'est surtout la solution forte de Flemming (1) qui nous est apparue la meilleure. Pour l'étude du chondriome dans ces organes nous avons eu recours, comme fixateur, au liquide de Helly.

LA COLORATION

Nous nous sommes le plus souvent servi de l'hématoxyline avec coloration de fond à l'érythrosine ; nous avons utilisé également le violet de gentiane à 1%. Par contre, la méthode de Gram utilisée par COUCH (1932) ne nous a pas donné d'excellents résultats.

Voici la série des manipulations que nous avons adoptées pour nos colorations du mycélium en masse.

a) Pour les noyaux.

1° après fixation et lavage, passage dans une solution à 3% d'eau oxygénée durant 15 à 30 minutes ;

2° lavage dans l'eau distillée pendant un quart d'heure en renouvelant l'eau plusieurs fois ;

3° mordantage à l'alun de fer à 4% pendant 4 à 6 heures ;

4° lavage à l'eau distillée pendant 15 minutes en renouvelant l'eau plusieurs fois ;

5° coloration à l'hématoxyline pendant la nuit ;

6° lavage à l'eau jusqu'à ce que l'eau ne soit plus colorée ;

7° différenciation à l'alun de fer à 2% avec contrôle sous le microscope ;

8° lavage à l'eau de une demi-heure à une heure ;

9° passage dans une solution aqueuse d'érythrosine à 1% pendant 30 secondes environ ;

10° lavage à l'eau pour chasser l'excès de colorant ; toutefois une légère surcoloration est préférable, à ce stade ;

(1) Acide chromique à 1% 15 cc., acide osmique à 2% 4 cc., acide acétique glacial 1 cc., fixation de 6 à 12 heures, lavage 24 heures.

11° passage par la série des alcools suivants avec séjour de 5 minutes dans chaque : 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90% ; un peu d'érythrosine disparaît alors ;

12° passage de deux fois 5 minutes dans l'alcool absolu ;

13° séjour de 5 minutes dans chacun des mélanges suivants :

alcool absolu 5/6 et xylol 1/6

— 2/3 — 1/3

— 1/2 — 1/2

— 1/3 — 2/3

— 1/6 — 5/6

14° deux passages de 5 minutes dans le xylol ;

15° montage au baume de Canada après avoir étendu une mince couche de mycélium sur la lame.

b) Pour le chondriome.

Après fixation, postchromisation et lavage :

1° séjour de 24 heures dans l'alun de fer à 4%,

2° lavage à l'eau distillée pendant 15 minutes,

3° coloration à l'hématoxyline pendant 24 heures,

ensuite même technique que pour les noyaux, mais il est préférable de ne pas colorer à l'érythrosine.

On peut simplifier la technique en passant par les alcools à 30, 50, 70, 90 et absolu et par les mélanges de

alcool absolu 2/3 et xylol 1/3

— 1/2 — 1/2

— 1/3 — 2/3

et enfin xylol.

Technique de préparation des coupes des organes sexuels.

Après fixation et lavage, la déshydratation a été effectuée par passage dans les alcools à 20, 30, 40 et 50% (séjour d'une heure dans chaque), 60, 70, 80, 90% (séjour de 2 heures dans chaque) ; ensuite passage dans deux bains successifs d'alcool absolu, avec séjour de 3 heures dans chaque.

Passage dans les mêmes mélanges d'alcool et de xylol que précédemment pour les noyaux du mycélium : avec séjour de 1 heure dans chacun d'eux ; séjour de 2 heures dans le xylol ; mélanges de

xylol et de paraffine, ces mélanges ont été renouvelés de façon à éliminer de plus en plus le xylol et finir par un bain de paraffine pure.

Les coupes ont été faites à l'épaisseur de 3 à 4 μ .

Pour le déparaffinage et la coloration, les coupes ont été traitées de la manière suivante : séjour de 5 minutes dans le xylol, puis de 5 minutes dans un mélange de xylol et d'alcool absolu à parties égales et de 5 minutes encore dans l'alcool absolu, puis de une minute dans chacun des alcools suivants : 90, 80, 70, 50 et 30%, enfin de 2 minutes dans l'eau. Le blanchiment et le lavage comme précédemment, de même pour le mordantage, la coloration et la différenciation. Pour le montage, passage de 2 minutes dans chacun des alcools à 30, 50, 70, 80 et 90% et de 5 minutes dans l'alcool absolu, dans un mélange à parties égales d'alcool absolu et de xylol.

Technique de Bowen (1929-1930).

La fixation a lieu par le mélange de Kolatchev. Lavage dans l'eau courante pendant 24 heures, après quoi le matériel est traité soit :

a) par l'acide osmique à 1% ou à 2% à la température de 35° pendant 4 à 10 jours, ou

b) par l'acide osmique à 1% ou à 2% d'abord, à 40° pendant 8 heures et ensuite à 35° pendant 4 à 10 jours ou, enfin,

c) par l'acide osmique à 2% à 40° pendant 4 à 10 jours.

L'acide osmique a été changé dans tous les cas après les 4 premiers jours. Les résultats obtenus ont, d'une façon générale, été comparables. Nous nous sommes appliqué à suivre la technique de Bowen dans ses plus minutieux détails.

Procédés microchimiques.

Nous avons eu recours aux techniques habituellement en usage pour déceler les lipoïdes (Soudan III, solubilité dans le chloroforme, etc., etc...); protéïdes (réactif de Millon, etc...); cellulose (acide iodhydrique, etc...); callose (bleu coton, coralline, en dissolution dans une solution aqueuse de $\text{Na}^2 \text{Co}^3$ à 4%); glycogène (solution iodo-iodurée); chitine (sol. iodo-iodurée et acide sulfurique).

MILIEUX DE CULTURE

Nous avons utilisé pour nos cultures deux sortes de milieux : des milieux naturels et des milieux synthétiques.

A. — Milieux naturels.

1° Milieux solides : I. Agar. — II. Farine d'Avoine. — III. Farine de Blé (1). — IV. Farine de Maïs. — V. Soja. — VI. *Lagenaria vulgaris*. — VII. *Cucurbita moschata*. — VIII. *Trichosanthes dioica*. — IX. *Luffa aegyptica*. — X. *Musa*. — XI. *Citrullus vulgaris*.

2° Végétaux : a) racines. — XII. Carottes. — XIII. Radis. — XIV. Navets. — XV. *Abutilon indicum*. — XVI. Tabac. — XVII. Betterave.

b) tubercules. — XVIII. Pommes de terre.

c) tiges. — XIX. Cannes à sucre. — XX. Tabac.

d) bourgeons. — XXI. Choux-fleurs.

e) feuilles. — XXII. Choux-fleurs. — XXIII. *Brassica oleracea*.

XXIV. Rhubarbe. — XXV. Tabac. — XXVI. *Indigofera enneaphylla*. — XXVII. *I. linifolia*. — XXVIII. Betteraves.

f) fruits : XXIX. Gourde. — XXX. Potiron mûr et non mûr. — XXXI. Concombre. — XXXII. *Trichosanthes dioica*. — XXXIII. *Luffa*. — XXXIV. *Averrhoa corambola*. — XXXV. *Goyave*. — XXXVI. Bananes. — XXXVII. Pommes. — XXXVIII. Tomates, mûres ou non.

g) graines. XXXIX. Ricin. — XL. Pois. — XLI. Harico.

h) plantules. — XLII. Cresson. — XLIII. Concombres. — XLIV. Betterave.

3° Liquides : XLV. Soja. — a) 25 graines par litres ; b) 50 graines par litre.

XLVI. Pois. — a) 25 graines par litre ; b) 50 graines par litre.

B. — Milieux divers.

1° Milieux solides : XLVII. Peptone de Merck-agar : peptone à 0,1, 0,2, 0,25, 0,3, 0,4, 0,5 et 2%. — XLVIII. Bactopeptone de Merck-agar : peptone à 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 et 1%. — XLIX. Milieu de Brown. — L. Extrait de malt d'orge de Kepler. — LI. Extrait de malt à l'huile de foie de morue de Kepler.

(1) Cornflour (Brown and Polsons', Londres).

2° Milieux liquides : LII. a) Peptone à 0,1, 0,25, 0,5, 1 et 2%.
b) Bactopeptone à 1%.

LIII. Saccharose à 1%. — LIV. Maltose à 1%. — LV. Amidon soluble à 1%. — LVI. Peptone à 0,1% plus maltose à 0,5 ou 1%. — LVII. Acide acétique à 1%. — LVIII. Glucose à 1%. — LIX. Inuline à 1%. — LX. Glycogène à 1%.

C. — Tissus animaux. LXI. Fourmis. — LXII. Scolopendres.

Modes de préparation des milieux de culture.

Les milieux furent placés à l'autoclave pendant 20 minutes à une température de 250° et à la pression de 15 atm. Pour les milieux solides on a ajouté 20 gr. d'agar par litre de liquide. Pour l'agar à la farine d'Avoine la formule utilisée est la suivante :

Quaker oats : 30 gr. ; agar : 15 gr. ; eau : 1 litre.

La farine de Blé a été utilisée à raison de 30 gr. par litre, celle de maïs à raison de 30 ou de 15 gr. par litre. Pour la préparation de l'agar à la farine de Maïs on a procédé de la façon suivante : on verse 15 gr. de farine de Maïs dans 500 cc. d'eau distillée et dans un autre récipient 20 gr. d'agar dans la même quantité d'eau ; on place au bain-marie les deux mélanges pendant 30 minutes, on filtre ensuite le premier à travers un linge mince et l'on complète à 500 cc. avec de l'eau distillée ; on mélange ensuite avec l'agar et, enfin, on stérilise.

Les graines de Soja, au nombre de 25 ou de 50, ont été mises à bouillir dans un litre d'eau pendant 2 heures. Après filtration on complète à 1 litre et on ajoute 20 gr. d'agar, on stérilise ensuite.

Pour les milieux VI à IX on a utilisé 200 gr. de fruits, non pelés, coupés en petits fragments pour 500 cc. d'eau. Après séjour au bain-marie pendant 1 heure, on a filtré et complété à 500 cc. D'autre part, on a préparé au bain-marie un mélange de 20 gr. d'agar dans 500 cc. d'eau distillée et, dans un cas, on a ajouté ce mélange au premier et porté à l'autoclave, dans un autre cas, les deux mélanges ont été stérilisés séparément à 3 reprises, pendant 20 minutes. Le pH des extraits de fruits a été évalué au potentiomètre, il est égal à 5,4 pour la Gourde et *Luffa* et à 5,6 pour *Cucurbita moschata* et *Trichosanthes dioica*.

Dans le cas de la Banane on a utilisé un extrait concentré. 500 gr. de bananes mûres, réduites en purée, sont ajoutés à 500 cc.

d'eau et le tout placé au bain-marie pendant 1 heure. On filtre sous pression ; au filtrat on ajoute 2% d'agar ; le pH avant stérilisation comme après a toujours été trouvé égal à 4,5.

Pour la préparation du mélange agar-graines de Melon d'eau on a suivi la technique de Sideris (1931).

Les milieux XII-XLIV ont été préparés de trois manières différentes. De petits fragments, après un lavage soigneux à l'eau distillée, ont été placés dans des boîtes de Petri et des tubes à essais. Dans chacune des boîtes on a ajouté un peu d'eau distillée et dans les tubes de l'eau jusqu'à la tubulure. Un lot a été stérilisé comprenant toutes les boîtes de Petri et une partie des tubes, le reste de ceux-ci l'a été par fractions.

Pour les milieux liquides XLV à XLVI les procédés ont été identiques à ceux employés pour V.

Pour la préparation du milieu de Brown on a préparé deux mélanges :

A	Asparagine.....	2 gr.	pour 100 cc. d'eau (on fait chauffer et on laisse refroidir).
	Sulfate de Mg...	0 gr. 75	
B	Phosphate de K.	1 gr. 25	pour 900 cc. d'eau (on fait chauffer et on laisse refroidir).
	Glucose	2 gr.	
	Amidon	10 gr.	

On mélange A et B et on ajoute 20 gr. d'agar ; on porte le tout au bain-marie jusqu'à parfaite homogénéité, on stérilise ensuite.

Les Fourmis et les Scolopendres ont d'abord été tuées par passage dans l'eau distillée bouillante et ensuite convenablement lavés à l'eau distillée, puis passés à l'autoclave dans de petites boîtes de Petri et enfin mis en tubes à essai avec un peu d'eau.

PREMIÈRE PARTIE

ETUDE PHYSIOLOGIQUE DES *PYTHIUM*

CHAPITRE I. — DÉVELOPPEMENT

Nous avons essayé tous les milieux précédemment cités et nous avons obtenu au sujet du développement des Champignons les résultats suivants :

Pythium deliense Meurs a été ensemencé sur tous les milieux de culture précédents sauf sur les milieux XVII, XXVI, XXVII, XXVIII, XLIV.

Pythium de Baryanum a été ensemencé sur les milieux I à V, XI, XII, XL, XLI, XLII, LII et LVIII.

Pythium mamillatum a été ensemencé sur les milieux I à V, XI, XII, XVII, XLIII, XLIV, LII, LVIII.

Pythium indigoferae Butler a été ensemencé sur les milieux I à VI, XI, XII, XV, XVIII, XXVI, XXVII, XL à XLIII, LII et LVIII.

On voit ainsi que les Champignons ont tous été ensemencés sur les milieux I, II, III, IV, V, XI, XII, LII et LVIII. On peut, par conséquent, comparer leur développement réciproque sur ces milieux à la température de 30°C.

Sur milieu I. — Le développement a été faible. Il n'y a pas eu formation de mycélium aérien et les colonies ne se voient que difficilement ; il n'y a que quelques ramifications.

Sur milieu II. — Sauf pour *Pythium indigoferae*, le développement a été luxuriant et il s'est développé dans tous les cas un riche mycélium aérien blanchâtre.

Sur milieux III et IV. — Il s'est développé ici aussi un mycélium aérien blanchâtre peu abondant, spécialement sur les bords de la boîte. Le développement de *Pythium de Baryanum* a été particulièrement remarquable sur farine de Maïs.

Sur milieu V. — Les résultats sont les mêmes que sur milieu I.

Sur milieu XI. — *Pythium deliense* a donné un excellent développement blanchâtre aérien, moindre chez *P. de Baryanum*, moindre encore pour *P. indigoferae*.

Sur milieu XII. — On a obtenu, dans tous les cas, d'épaisses masses gélatineuses blanchâtres à la surface du substratum.

Sur milieu LII. — Sur peptone (poudre sèche de viande) le développement est ordinairement bien supérieur comparativement au milieu de bacto-peptone et les masses sont beaucoup plus épaisses dans le premier cas. Les hyphes sont moins larges sur bacto-peptone.

Les cultures ayant été faites dans des flacons de 150 cc., renfermant 60 cc. de la solution peptonée, on a vu les hyphes du *P. deliense* atteindre, après environ 2 jours, la surface du liquide et demeurer aériens pendant quelque temps. Il y a alors formation d'une plaque de mycélium blanchâtre d'aspect gélatineux (comme chez *Saprolegnia* : CHAZE 1925, VOLKONSKY, 1933) qui augmente peu à peu en épaisseur (Pl. II, fig. 18). Lorsque le développement s'opère plus ou moins en surface on ne voit guère, en effet, de mycélium en profondeur; le Champignon n'est, d'ailleurs, pas aquatique. Il en va de même [pour *P. de Baryanum* et *P. mamillatum*, mais les masses sont moins épaisses. Du point de vue de l'épaisseur du feutrage superficiel des colonies on a, en décroissant : *P. deliense*, *P. de Baryanum* et *P. mamillatum*; du point de vue de la rapidité du développement, l'ordre est inverse, en ce sens que *P. deliense* atteint le plus vite la surface. Chez *P. indigoferae* les hyphes n'émergent jamais, mais restent toujours en dessous de la surface, même après 15 jours. A mesure que la quantité de peptone diminue, le développement se ralentit, pour cesser lorsque la concentration est descendue à 0.1% ce qui a pour conséquence la non formation d'une plaque de feutrage.

Sur milieu LVIII. — Nous n'avons obtenu aucun développement sur ce milieu. *P. deliense* a donné quelques hyphes, mais ceci était dû sans doute à la petite quantité de farine de Maïs apportée lors du repiquage.

Nous allons envisager maintenant le comportement de chacun de ces Champignons vis-à-vis des autres milieux non étudiés ci-dessus et particuliers à chacun d'eux, et nous porterons plus spécialement notre attention sur le *P. deliense*.

Pythium deliense. — Ce Champignon s'est développé sur tous les milieux sauf sur les milieux XXXIV et LVII. (On notera, d'ailleurs, que le pH du jus de fruit d'*Averrhoa* est égal à 2,1). Sur les milieux VI à X on a obtenu un excellent développement aérien. Sur *Musa* les hyphes étaient spécialement larges. Sur Navets et sur Betteraves on a obtenu un mycélium aérien blanchâtre, alors que sur les autres racines il n'était ni aérien ni blanchâtre. Sur Pommes de terre, le développement a été particulièrement abondant et a atteint une hauteur d'environ 2 cm. 5 à l'intérieur des boîtes de Petri.

Sur les milieux XIX et XXI on a obtenu un mycélium aérien blanchâtre, tandis que sur les feuilles et les plantules, comme sur les tissus animaux d'ailleurs, le mycélium est mince et non aérien, à l'inverse de ce qui se passe pour les graines. Avec les fruits le développement a été spécialement abondant et aérien sur : le Potiron non mûr, le Concombre, la Tomate et le *Tricosanthes*, moindre sur la Gourde, le *Luffa* et le Potiron mûr. Le résultat le moins bon a été rencontré sur le Goyave et il est assez difficile de dire pourquoi ; sur la Banane et la Pomme, on n'a pas obtenu de développement aérien.

Sur liquide au Soja. — On n'a pas obtenu les plaques superficielles rencontrées sur les solutions peptonées. Au sujet de celles-ci les résultats ont été bien meilleurs avec la peptone (poudre sèche de viande) qu'avec la bacto-peptone et, à mesure que le pourcentage en peptone s'accroît, le développement aérien s'intensifie.

Sur milieu amylicé de Bowen, il s'est formé un riche mycélium aérien blanchâtre, cependant que, en solution maltosée ou avec le glycogène ou l'inuline, si le développement était bon, le mycélium est demeuré, toutefois, en dessous de la surface du liquide, même après une semaine.

Sur milieu LVI les résultats ont été les mêmes qu'avec la solution peptonée à 1% et les hyphes périphériques se sont allongés sur les bords du récipient.

P. de Baryanum. — La croissance a été excellente sur les graines

de Pois et de Haricots, mais sur les plantules de Cresson, le mycélium n'était pas blanc.

Pythium mamillatum. — On n'a pas obtenu de développement aérien sur les plantules bouillies ou vivantes de Betteraves ou de Concombres.

Pythium indigoferae. — On a obtenu le développement du Champignon sur les milieux VI, XV, XVIII, XXVI, XXVII, XL, XLI, XLII et XLIII, mais jamais de mycélium aérien blanchâtre.

Dans tous les cas que nous venons de passer en revue, on obtient un mycélium ramifié, non cloisonné, et d'aspect hyalin, dont la structure interne est granuleuse. Lorsque le développement est bon, on constate l'existence de mouvements cytoplasmiques particulièrement intenses. D'une façon générale, certains hyphes pénètrent à l'intérieur du substratum, mais la plus grande partie du mycélium demeure périphérique et devient même aérien dans plusieurs cas. L'une et l'autre portion se ressemblent d'ailleurs et toutes deux peuvent porter les organes reproducteurs, bien que ceux-ci se forment plutôt à la surface du milieu de culture. On ne note aucune formation de rhizoïde, ni d'haustorium. Après quelque temps le mycélium aérien s'enfonce et ce phénomène débute généralement au centre de la colonie ; il diffère, par ailleurs, d'espèce à espèce et de milieu à milieu.

Degré de rapidité d'extension des colonies.

Le milieu utilisé dans ces expériences a été celui à la farine de Maïs et agar. Les prélèvements ont été effectués à partir de boîtes de Petri renfermant les Champignons divers et maintenues à la température de 30°. L'âge du repiquage était toujours de 48 heures. Le prélèvement a toujours été effectué à la périphérie de la colonie de façon à intéresser les extrémités de jeunes hyphes. On a pris soin de prélever des fragments de même dimension, soit d'environ 2 à 3 mm. de diamètre. Afin d'avoir des termes de comparaison suffisants, les expériences ont été poursuivies en triple et les résultats rapportés sont les moyennes des valeurs obtenues après 2 lectures dans chacun des trois cas comparables (1).

(1) Les dimensions des boîtes de Petri étaient de 14 cm.5 sur 2 cm.5 ; chacune contenait 50 cc. de substratum et étaient placées, avec le milieu à ensemercer, à la température à laquelle les expériences devaient être conduites quelque temps auparavant.

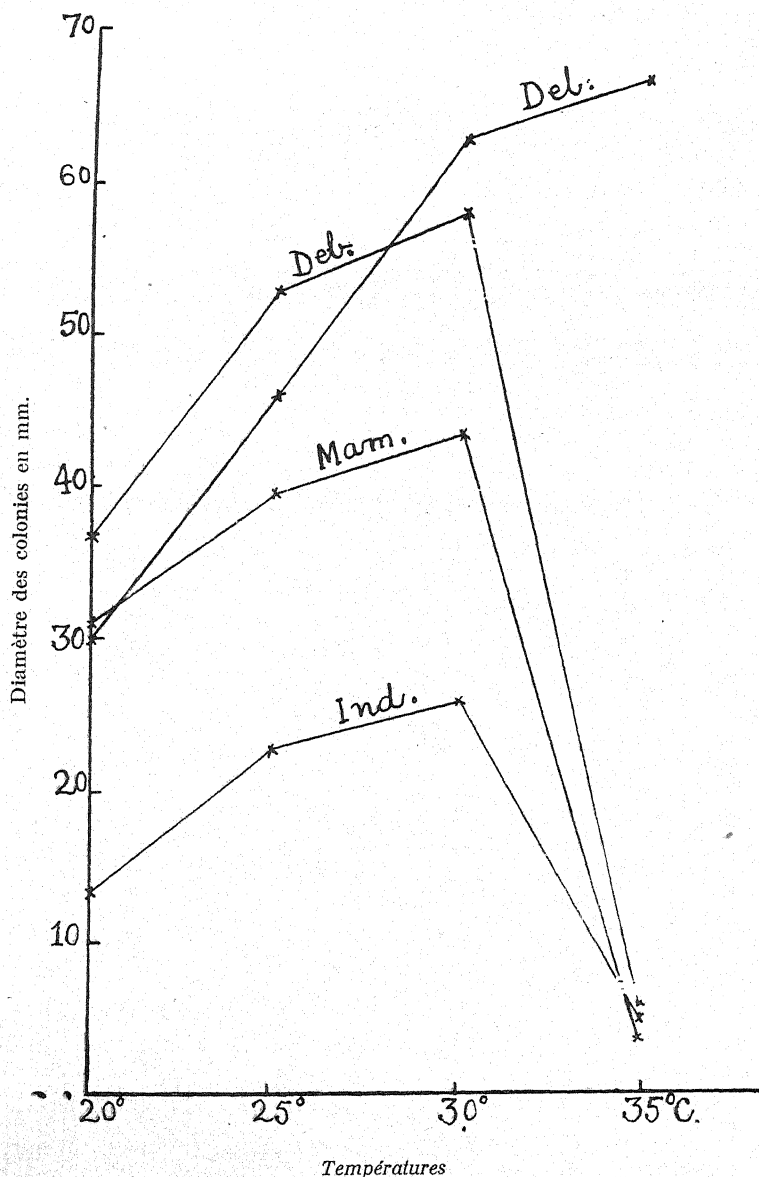


Fig. 1. — Courbes comparatives de croissance des Champignons pendant les 24 premières heures, à différentes températures. Deb. = *Pythium de Baryanum*; Del. = *P. deliense*; Mam. = *P. mamillatum*; Ind. = *P. indigoferae*.

Développement comparé des Champignons pendant les 24 premières heures à 20, 25, 30 et 35°C.

D'après le graphique ci-contre, on peut voir qu'à 20° *P. indigoferae* présente le développement le plus réduit, à l'inverse de *P. de Baryanum* qui s'est développé le mieux, tandis que les autres Champignons ont pratiquement les mêmes caractéristiques de croissance. A 35°C il n'a pas été possible de fixer avec certitude le degré de développement de *P. de Baryanum*, *P. mamillatum* et *P. indigoferae*, car cette croissance a été très restreinte, de plus, en raison de la température, une accumulation de vapeur d'eau s'est produite qui a gêné les observations. Néanmoins, il est évident qu'à 35° la croissance des *Pythium*, en dehors de *P. deliense*, est fortement réduite et sans doute à une température plus élevée aurait-elle même été arrêtée. Aussi peut-on placer pour ces trois Champignons l'optimum de température à environ 30° et à 35° la température maxima, alors que, pour *P. deliense*, on a les valeurs respectives de 35° (optimum) et de 40° C (maximum). On notera que les trois premiers Champignons, bien que *P. indigoferae* soit un épiphyte subtropical, ont pratiquement les mêmes températures optimale et maximale que *P. ultimum* (Trow, 1901) et *P. de Baryanum* var. *Pelargonii* Braun (BRAUN, 1925), ce dernier ayant son optimum à environ 27°C. *P. indigoferae* est celui dont la croissance est la plus lente, vient ensuite *P. mamillatum* et, enfin, *P. de Baryanum*. *P. deliense* se développe lentement à 20°, mais à 25° il croît plus vite que *P. mamillatum* et à 30° il surpasse en rapidité de développement *P. de Baryanum*. Sauf chez *P. indigoferae* le mycélium devient légèrement aérien à 30° C.

Développement de *Pythium deliense* à différentes températures.

La température minimale pour son développement est à 10°C, alors que, à l'autre extrémité de l'échelle des températures, la croissance s'arrête après 40°, l'optimum se plaçant à 35°C. Jusqu'à 30° la courbe de la croissance est une droite, on remarque ensuite un plateau et, après 35°, la courbe redescend rapidement pour atteindre 0 à 45°C.

On voit, sur le graphique ci-dessous, combien est rapide la croissance aux températures avoisinant 15°.

Pour nous rendre compte si les températures inférieures à 10°, et supérieures à 45°, sont funestes au Champignon, les expériences suivantes ont été effectuées : 6 boîtes de Petri renfermant un milieu à la farine de Maïs-agar ont été divisées en 2 lots : A et B, de chacun 3 boîtes. Le premier lot a servi de témoin. Avant d'ensemencer les boîtes de la série B, celles-ci ont été maintenues à 10° pendant 12 heures. L'ensemencement a eu lieu en A et B en même temps, mais le premier lot est demeuré à la température de la chambre, alors

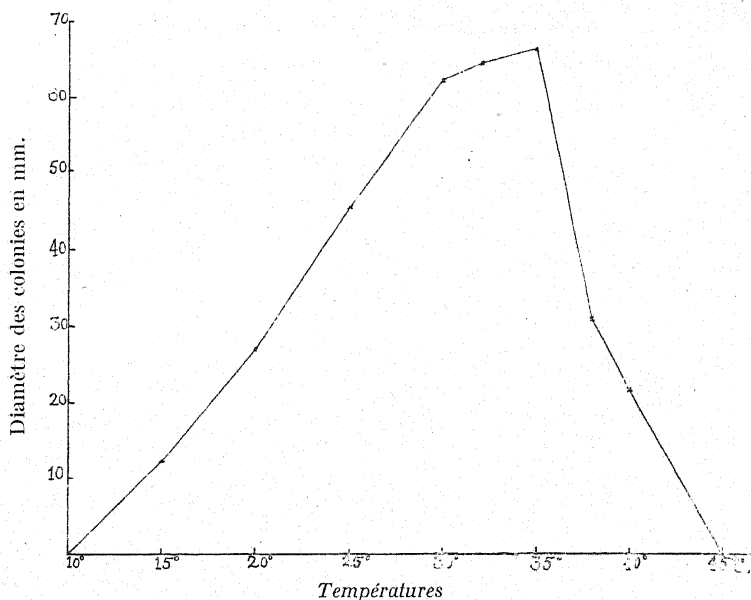


Fig. 2. — Courbe de croissance de *Pythium deliense* durant les 24 premières heures à différentes températures.

que le second était placé à 10°C. L'examen a été effectué 48 heures après. Il a montré que, dans les boîtes du lot A, le développement s'était effectué, tandis que dans celles du lot B, il n'y avait pas eu de croissance.

Les trois boîtes B furent maintenues à la température ordinaire pendant 48 heures ; après ce temps il a été possible de constater que le Champignon s'était bien développé. Reportées à 10°, on traça, après 24 heures, à l'aide d'un crayon à verre, le contour des colonies extérieurement sur les boîtes qui furent laissées pendant 10 jours

à cette même température. Après ce temps, la croissance ne s'était pas poursuivie ; elle reprit dès que l'on eut remplacé les boîtes à la température ordinaire.

Des expériences de même nature furent effectuées à 45, à 7 et à 5°C. Elles ont permis de constater que le Champignon n'était pas tué même à 5° en ce qui concerne les températures inférieures, alors qu'il l'était dès après 24 heures à 45°C. Aux basses températures, et aussi au-dessus de 35°, la croissance est par conséquent

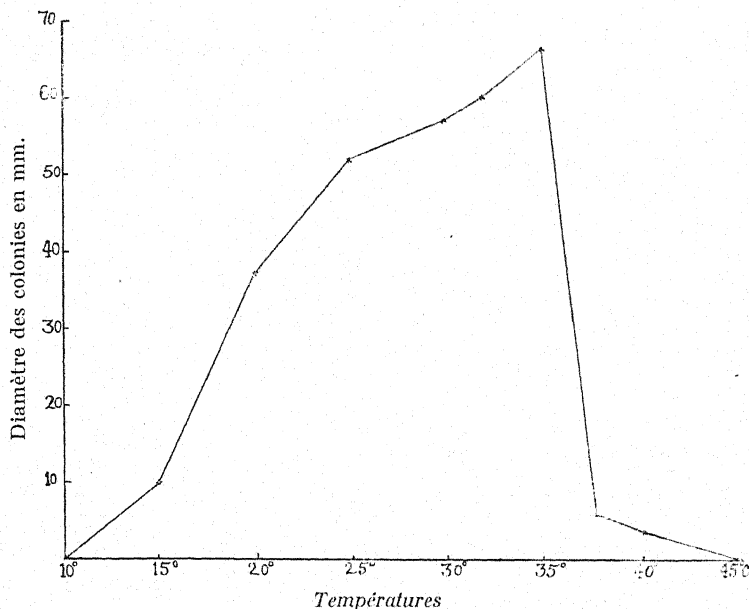


Fig. 3. — Courbe de croissance de *Pythium deliense* durant le deuxième jour, à différentes températures.

réduite et diffuse ; aux températures élevées, mais inférieures à 36°, il se forme un mycélium compact et les hyphes sont abondamment ramifiés. Entre 30 et 35° le mycélium devient partiellement aérien et blanchâtre et la forme des colonies n'est plus arrondie, mais irrégulière.

Action de certains corps sur la croissance de *P. deliense* à 27° C

On doit à LWOFF (1932) une classification physiologique des micro-organismes. Le fait que l'aliment organique azoté (par exem-

ple : la peptone, l'alanine) peut assurer l'alimentation carbonée de certains de ces organismes leur a fait donner le nom d'*haplotrophes* (tel le *Saprolegnia*), celui de *mésotrophes* étant appliqué à ceux capables de faire la synthèse de leurs protides à partir de NH^3 et ayant besoin d'un composé organique. Cet auteur a constaté que, chez ces derniers, la synthèse des protides à partir de NH^3 peut se faire, soit à partir du NH^2 des acides aminés, soit à partir des sels d'ammonium ou des nitrates préalablement réduits, c'est-à-dire à partir de composés azotés minéraux ou organiques simples. Si l'aliment azoté est minéral, une source carbonée organique est indispensable. D'après lui la grande majorité des Bactéries et des Champignons sont *haplomésotrophes*, car ils ont besoin d'une source azotée minérale (nitrate, sel d'ammonium) ou bien d'une source azotée organique simple (acide aminé).

En 1933, VOLKONSKY divisa les mésotrophes en quatre catégories : les mésotrophes *sensu stricto* (assimilation des nitrates et des sulfates), exemples : *Aspergillus* et *Sterigmatocystis* ; les mésotrophes N (non assimilation des nitrates, assimilation des sulfates), exemple : *Saccharomyces*, etc. ; les mésotrophes N-S (ni les nitrates, ni les sulfates ne sont assimilés), exemple : *Saprolegnia dioica* ; les mésotrophes S (non assimilation des sulfates, assimilation des nitrates), mais ce groupe ne comporterait à l'heure actuelle aucun exemple connu. D'autre part, il distinguait les Champignons quant à leur pouvoir d'assimilation ou de non-assimilation de l'ion SO^4 en : eutiotrophes et parathiotrophes (1933 a).

Plus récemment (1934), le même auteur a montré que les espèces de *Saprolegnia*, *Isoachlya*, *Dychtyuchus* et *Aphanomyces*, étudiées par lui, sont haplomésotrophes N-S et parathiotrophes, tandis que d'autres Champignons, tels *Pythium de Baryanum* et *Phytophthora* sp., *Rhinoctadium*, *Ustilago* et toutes les Gymnoascées sont haplomésotrophes et eutiotrophes.

Personnellement nous avons utilisé les milieux suivants :

- | | |
|---|--|
| A. — NH^4NO^3 , MgSO^4 , KH^2PO^4 , KNO^3
et glucose, 0.1 gr. de chaque. . | } additionnés de 100 cc. H^2O
bi-distillée. |
| B. — les mêmes éléments, sauf NH^4NO^3 | |
| C. — les mêmes éléments, sauf MgSO^4 . . | |
| D. — les mêmes éléments, sauf Glucose . | |
| E. — les mêmes éléments, sauf KNO^3 . . . | |

Dans tous les cas nous avons ajouté des traces de Fe^2Cl^6 et 2% d'agar pur. Le prélèvement a été fait sur une culture maintenue sur agar pur à 2%. Dans le tableau ci-dessus, la croissance est évaluée en millimètres après 24 et 48 heures et la moyenne a été prise après 6 lectures.

	DIAMÈTRE DES COLONIES	
	APRÈS 24 HEURES	APRÈS 48 HEURES
A	38 mm.	79 mm.
B	17 mm.	50 mm.
C	26 mm.	61 mm.
D	37 mm.	81 mm.
E	37 mm.	80 mm.

On voit de suite que l'absence de NH^4NO^3 en B et de MgSO^4 en C nuit à la croissance et que bien qu'il y ait une source d'azote présente en B, grâce à KNO^3 , le développement est comparative-ment moindre. Il semble donc bien qu'il n'y ait *pas assimilation des nitrates* par notre Champignon ; la source d'azote doit être NH^3 , représentée ici par NH^4NO^3 . Sur milieu A, MgSO^4 étant présent, la croissance est bonne, ceci tient à l'assimilation des sulfates par le Champignon.

Nous avons de plus cultivé *P. deliense* sur un milieu liquide stérilisé contenant 0,1 gr. de chacun des corps suivants :

KH^2PO^4 , NH^4NO^3 , KNO^3 , MgSO^4 , glucose et 100 cc. d'eau bi-distillée, avec des traces de Fe^2Cl^6 . Le prélèvement (mycélium aérien seulement) était effectué d'une culture sur agar farine d'Avoine. L'examen était macroscopique.

Le développement sur ce milieu a été bon. Mais, lorsque l'on supprime soit NH^4NO^3 , soit le glucose, la croissance cesse. En l'absence de KNO^3 (mais en présence de NH^4NO^3) la croissance ne subit aucun retard, tandis qu'elle est un peu moins active en l'absence de MgSO^4 . On peut remplacer le glucose par 0,1 % de peptone.

Quelles conclusions pouvons-nous tirer de ces expériences ?

1° En l'absence de NH^4NO^3 , bien que KNO^3 soit présent, il

n'y a pas de développement, parce qu'il n'y a pas assimilation des nitrates qui ne peuvent ainsi servir de source d'azote.

2° En présence de NH_4NO_3 , que KNO_3 soit présent ou non, le développement est bon, et par conséquent la source d'azote est bien NH_3 .

3° La peptone peut remplacer le glucose comme source de carbone, en d'autres termes l'aliment organique azoté peut assurer la nutrition carbonée.

4° MgSO_4 ne nuit, ni n'est indispensable au développement. Cependant lorsqu'il est présent celui-ci est un peu plus actif, ce qui indique que le sulfate (en l'espèce l'ion SO_4) est assimilé.

En conséquence *P. deliense* est un organisme *euthiotrophe* au contraire de *Saprolegnia* (VOLKONSKY, 1934 a) qui n'utilise pas SO_4 . D'autre part, *P. deliense* est également haplotrophe, puisque l'aliment organique azoté (peptone) peut assurer la nutrition carbonée ; il est aussi mésotrophe, car il peut effectuer la synthèse des protides à partir de NH_3 . En un mot il est *haplomésotrophe*.

De plus, du fait qu'il n'est pas capable d'assimiler les nitrates, mais assimile les sulfates, il est, suivant la terminologie de VOLKONSKY : *haplomésotrophe N*. Il est ainsi à ajouter à la liste des organismes comprenant déjà : *P. de Baryanum*, *Phytophthora parasitica*, *P. palmivora*, *Rhinoctadium Beurmanni*, *Ustilago Maydis* et toutes les Gymnoascées étudiées par VOLKONSKY (1934).

Effet du saccharose, du maltose et du glucose sur le développement de *P. deliense* à 30°C.

Ces sucres ont été ajoutés en diverses proportions à un milieu de bactopeptone à 0.1% et agar à 2%.

A. — Diamètre (en cm.) des colonies après 24 heures.

SUCRE	1 %	3 %	5 %	7 %	10 %
Saccharose.....	6.3	6.4	6.5	6.4	6.2
Maltose	6.0	5.9	6.1	6.1	5.6
Glucose	6.1	6.2	5.7	5.2	4.5

Témoin : (0.1 bactopeptone + 2% gélose) = 6.3 cm.

B. — *Diamètre des colonies après 48 heures.*

SUCRE	1 %	3 %	5 %	7 %	10 %
Saccharose.....	11.6	11.8	12.0	11.8	11.4
Maltose	10.9	10.7	11.3	11.3	10.5
Glucose	11.5	11.8	10.9	10.2	8.9

Témoin = 11.6 cm.

C. — *Croissance durant les secondes 24 heures (B-A).*

SUCRE	1 %	3 %	5 %	7 %	10 %
Saccharose.....	5.3	5.4	5.5	5.4	5.2
Maltose	4.9	4.8	5.2	5.2	4.9
Glucose	5.4	5.6	5.2	5.0	4.4

Témoin = 5.3 cm.

Le développement est plus particulièrement aérien avec 1% de sucres, il le devient de moins en moins à mesure que la concentration augmente.

Les résultats que nous venons de résumer dans les tableaux ci-dessus ne permettent pas de tirer de conclusions importantes. Il est évident qu'une concentration en sucre (maltose et glucose) trop élevée nuit au développement, mais d'une façon générale l'action des sucres sur la croissance ne paraît pas être primordiale.

Effet de l'acide tannique sur le développement du *P. deliense*.

On a préparé, pour cette culture, deux milieux, soit : a) farine de Blé 4% + agar à 2% et acide tannique à 0.5% et b) farine de Blé 4% + agar à 2% et acide tannique à 1.0%.

Ni dans l'un, ni dans l'autre cas, on n'a pu obtenir le développement du Champignon. La présence d'acide tannique, à quelque concentration que ce soit, est donc incompatible avec la croissance de cet organisme.

Effet du rouge neutre sur le développement du *P. deliense*.

En étudiant la coloration *intra vitam* nous avons remarqué que plus la concentration du colorant (ajouté à une solution de

peptone à 1%) était élevée, moins le développement était satisfaisant. Si l'on ajoute, par exemple, 4 mgr. ou 5 mgr. % de rouge neutre à une solution de peptone à 1%, dans des cultures effectuées à la température de la chambre, soit 20-24°, on constate que, même après une semaine, le Champignon n'a pas donné de feutrage mycélien important à la surface du liquide, alors que l'on peut en obtenir avec des quantités de colorant moindres : 1, 2 ou 3 mgr. %, pour la même quantité de liquide. Cette constatation peut être faite, d'ailleurs, à propos d'autres Champignons également.

Le rouge neutre à faible dose n'a pas d'effet nuisible sur la rapidité de la croissance. A haute dose il est toxique et retarde celle-ci. Des observations analogues ont déjà été faites par GUILLIERMOND (1929 a) et GUILLIERMOND et OBATON (1934), sur *Saprolegnia*.

Effet de l'extrait de malt et du malt à l'huile de foie de Morue sur le développement de *P. deliense*.

Le Champignon a étéensemencé, à 30°, sur de l'agar pur à 2%, de l'extrait de malt d'Orge de Kepler à 1%, 1.5%, 2% et sur de l'extrait de malt à l'huile de foie de Morue de Kepler (Burroughs Wellcome et Co, Londres); dans tous les cas on a ajouté 2% d'agar. Les dimensions des boîtes de Petri étaient 11 × 11 cm. L'examen a eu lieu après 48 heures.

Dans le cas de l'agar pur, la surface tout entière était recouverte par le Champignon, qui avait atteint les bords de la boîte. La rapidité de développement, de même que le caractère aérien de la culture, diminuent avec l'augmentation de la concentration de l'extrait de malt. Après 72 heures, les diamètres des colonies étaient, sur agar au malt à 1%, 1.5% et 2%, respectivement de 5.8, 3.0 et 2 cm.5. Sur agar au malt à 2 et 1.5% on a rencontré un certain nombre de corps ressemblant à des bourgeonnements (pl. II, fig. 19). Ces formations rappellent celles rencontrées chez *P. gracile*. C'est surtout sur malt-agar à 2% que ces corps étaient particulièrement nombreux et leur quantité allait en décroissant avec l'augmentation du pourcentage du malt. Sur malt-agar à 1%, où ils étaient en petit nombre, ils n'apparurent qu'après 72 heures, alors que l'on pouvait les rencontrer dès après 48 heures sur milieu à 2% et 1.5% de malt-agar.

Par contre, sur milieu à 1% de malt-agar, on avait un mycélium

aérien abondant, alors qu'il était rare sur milieu à 1.5% ou 2%. Le diamètre des colonies après 72 heures sur malt-agar à l'huile de foie de Morue à 2% était de 8 cm.8 et le développement avait un caractère moins aérien que sur malt-agar à 2%. Il est évident que l'huile de foie de Morue, qui contient également des vitamines, favorise la croissance du mycélium, qui perd toutefois son caractère aérien. Ceci a été confirmé par le fait que, lorsque l'on ajoute 0.5 gr de malt à l'huile de foie de Morue, à du malt-agar à 1.5%, le diamètre de la colonie passe de 3 cm.0 à 6.0, après 72 heures.

Effet de la concentration en ions H sur la croissance du *Pythium deliense* à 27°.

LINOSSIER et ROUX (1890) ont été des premiers à signaler l'influence exercée par la réaction du milieu sur les Champignons. Etudiant la nutrition du Champignon du Muguet, ils ont constaté qu'il se développait abondamment sur milieux alcalins.

PELTIER (1912) a obtenu d'excellentes cultures de *Botrytis cinerea* Fr. sur milieux acides, alors qu'elles étaient médiocres sur milieux alcalins. Si l'acidité augmentait considérablement, le mycélium devenait stérile, tandis qu'avec une augmentation de l'alcalinité le nombre des sclérotés diminuait et celui des conidies augmentait.

ZELLER (1916), examinant quatre Champignons lignicoles, a montré que leur croissance était meilleure sur milieux acides que sur milieux alcalins.

GAGNEY (1916), dans ses études sur les *Actinomyces*, a trouvé que leur présence dans le sol est liée à un pH voisin de 6.

BRIGHTMAN, MEACHAM et ACREE (1920), avec *Endothia parasitica* (Murr.) Anders, ont trouvé que la germination commence à pH 2.6, est très peu active jusqu'à pH 4, où se manifeste un brusque maximum à pH 4.5, puis la courbe représentative forme un plateau jusqu'à pH 8 et s'annule à pH 8.5. L'étude attentive de la courbe permet de supposer l'existence d'un deuxième maximum vers pH 7.

En 1920, WAKSMAN et JOFFE ont apporté une confirmation aux résultats de GAGNEY.

En 1921, KARRER a montré que *Fusarium* sp. se développe de pH 2 à pH 9.2; *Colleotrichum Gossypii* Southw. de pH 3 à pH 9.2 et *Penicillium italicum* Wehmer de pH 2.5 à pH 8.

HOPKINS (1922) a cultivé *Gibberella Saubinetii* (Mout.) Sacc. sur une décoction de pomme de terre acidifiée et alcalinisée. Il obtint une courbe de croissance avec minimum bien défini situé, suivant le cas, entre pH 5.5 et pH 6.3.

KIRBY (1922 et 1925) a montré que *Ophiobolus graminis* Sacc. croissait le mieux sur milieux fortement alcalins.

EZEKIEL (1923), avec *Sclerotinia apothecia*, a rencontré un optimum à environ pH 2.5 ; le développement cesse à pH 7.7.

LEACH (1923) constate que *Colleotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Mag.) Br. et Cav. se développe mieux sur des milieux alcalins.

LINDFORS (1924) a étudié de nombreuses espèces de *Fusarium* et constaté un optimum de croissance du côté acide. Du côté de pH 7, il y a une baisse rapide de la courbe de croissance.

BOYLE (1925) a trouvé que *Fusarium* sp. croît de pH 3.4 à pH 10 sur milieu de Richard et de pH 2.2 à pH 8 sur décoction de pommes.

Les expériences de Mc KINNEY (1925) ont montré que la croissance de *Helminthosporium sativum* P.K. et B. est favorisée par un milieu neutre ou légèrement acide.

DAVIS (1926) a indiqué qu'un milieu neutre ou légèrement acide est très favorable à la croissance de *Ophiobolus graminis*, contrairement à ce qu'avait admis KIRBY (1922 et 1925).

COUCH (1932) a cultivé *Leptolegnia caudata* sur de l'eau, provenant d'un puits artésien, acidifiée par HCl ou alcalinisée par Na^2CO^3 et dont les pH allaient de 2.6 à 9.8 et il a constaté que la croissance était bonne dans toutes les solutions dont les pH allaient de 9 à 3 environ, médiocre et invisible à l'œil sur milieu à pH 2.6.

Sur un milieu constitué par du maltose à 0.5% avec de la peptone à 0.1% et de l'agar à 2% acidifié par une solution normale de PO_4H^3 , la croissance du Champignon se ralentit à mesure que le pH augmente, jusqu'à une chute brusque du développement à pH 4.6, alors que dans les cultures à pH 4.5 et 4.4 la croissance repart avec la même rapidité qu'à pH 5.0.

DENNIS (1933) a trouvé un optimum pour *Helminthosporium avenae* Eidano à pH 6, et donc du côté acide ; une croissance assez bonne étant obtenue entre pH 5 et pH 6.75.

SINGH (1933) a étudié *Cercospora dolichi* E. et E. et trouvé, sur

une gamme de pH allant de 3.3 à 8.1, deux maxima, l'un à 4.6 et l'autre à 7.1; il en conclut que ce Champignon réclame pour sa croissance soit un milieu acide, soit un milieu légèrement alcalin.

MITRA ET MEHTA (1934) ont trouvé, pour *Helminthosporium nodulosum* B. et C., cultivé sur milieu de Richard modifié, un maximum à pH 5.5 et un autre à pH 7.1 et un minimum à pH 6.3. Il n'y avait aucun développement à pH 2.1 et à pH 8.5. Avec *H. leucosyllum* Drech. les maxima étaient à pH 5.5 et 6.7, avec un minimum à pH 6; il n'y avait aucune croissance à pH 3.0 et 8.5.

Personnellement nous avons effectué nos cultures sur des milieux acidifiés ou alcalinisés respectivement par addition de HCl ou de Na^2CO^3 (farine de Maïs à 1.5 % avec agar pur à 2 %), à la température de 27° C. La culture destinée à procurer le matériel de repiquage était elle-même maintenue à la température de 27° sur agar farine de Maïs. Le prélèvement était fait après 48 heures et à la périphérie de la culture, de manière à entraîner de jeunes hyphes. La dimension des boîtes de Petri était de 14 cm.5 sur 2.5. Les expériences étaient effectuées sur trois lots et les résultats rapportés ci-dessous sont les moyennes de six lectures. Avant l'ensemencement, les boîtes préparées étaient elles-mêmes maintenues à la température de 27°. Le pH a été évalué par la méthode électrométrique de la manière suivante. Dans chaque cas, on prenait deux flacons renfermant l'un 150 cc. d'extrait de farine de Maïs à 1.50%, l'autre 150 cc. du même extrait avec 2% d'agar. On ajoutait à chacun la même quantité de HCl ou de Na^2CO^3 , et on stérilisait à l'autoclave. Le contenu du second flacon a été réparti également entre 3 boîtes de Petri qui furentensemencées ensuite. Le pH de l'autre flacon a été déterminé électrométriquement, ce qui donne en même temps celui du second, car on sait que l'addition d'agar ne change pas cette valeur (CLARK et LUBS, 1917). Lorsque le pH du milieu descend en dessous de 2.9 et 2.6, le milieu ne prend pas et, en conséquence, il n'est pas possible de poursuivre d'expériences à un pH inférieur à 2.9. Le pH de l'extrait de farine de Maïs seul est de 6.2.

La figure 4 montre très clairement qu'il n'y a qu'une croissance faible sur des milieux dont le pH est bas, mais qu'elle augmente à

mesure que l'acidité diminue, jusqu'à être parfaite avec un pH égal à 5. Le développement est moindre ensuite jusqu'à pH 7, pour augmenter alors avec l'alcalinité et l'optimum se place à environ pH 9, où la croissance est encore plus active qu'au premier optimum. Une augmentation de l'alcalinité retarde la croissance journalière

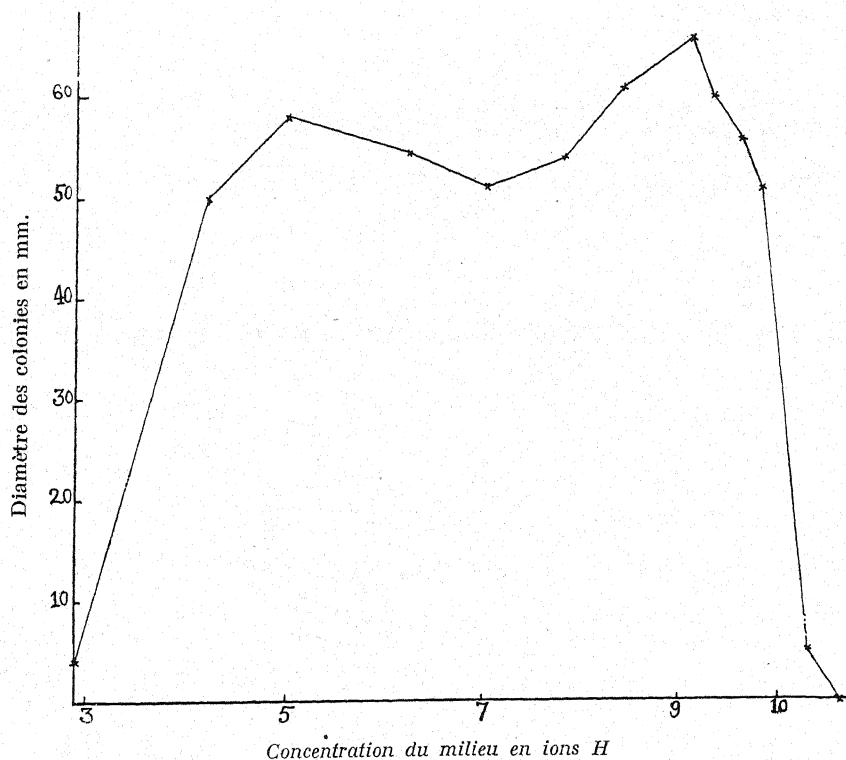


Fig. 4. — Courbe de croissance de *Pythium deliense* durant le deuxième jour à 27°C, à différents pH.

et il y a une chute brusque de la courbe à partir de pH 9.8, jusque pH 10.6, où la croissance s'arrête. Ainsi donc l'alcalinité, dans certaines limites, favorise le développement de ce Champignon, mieux que l'acidité.

Le caractère de la croissance à des valeurs du pH hautes ou basses est le même. Le mycélium est peu abondant, non compact et ne peut être distingué que difficilement.

On a constaté, d'une façon générale, ainsi que le montrent les résultats rapportés au début de ce chapitre, que les Champignons se développent mieux sur des milieux acidifiés légèrement, c'est le cas par exemple pour *Botrytis cinerea* (PELTIER), *Fusarium* sp. (LINDFORS), *Helminthosporium avenae* Eidano (DENNIS) et *H. leucostylum* (MITRA et MEHTA). Cependant l'inverse est également vrai, c'est le cas du Champignon du Muguet (LINOSSIER et ROUX), de *Colleotrichum lindemuthianum* (LEACH), ce dernier modifie le milieu sur lequel il est placé qui, étant acide, devient alcalin. *Cercospora dolichi* (SINGH) et *H. nodulosum* (MITRA et MEHTA) montrent aussi une légère préférence pour un milieu alcalin. Il en va de même pour *P. deliense*, qui a son optimum de croissance à pH 9 environ et manifeste une préférence nette pour les milieux alcalins. En réalité *P. deliense* a deux maxima, l'un à pH 5 et l'autre à pH 9, avec un minimum à pH 7. De fait il est de nombreux Champignons qui ont eux aussi deux maxima, c'est ce qui a lieu avec *Cercospora dolichi*, par exemple, et avec *Helminthosporium nodulosum* (MITRA et MEHTA).

Chez *P. deliense*, le développement est vraiment très faible quand le milieu est ou trop acide (pH 2.9) ou trop alcalin (pH 10.3) et le développement s'arrête à pH 10.6. Par ces caractères il est comparable aux espèces d'*Helminthosporium* étudiées par MITRA et MEHTA. Ces derniers auteurs ont constaté l'absence de développement à pH 2.1 et pH 8.5 pour *H. nodulosum* et à pH 3.0 et 8.5 pour *H. leucostylum*.

En résumé, *P. deliense* réclame pour son développement optimum, soit un milieu légèrement acide, soit un milieu alcalin.

CHAPITRE II. — ORGANES SEXUELS

Influence des conditions externes sur la reproduction sexuelle.

Nous étudierons en premier lieu la température, ensuite le pH, puis la lumière et l'obscurité, l'absence d'oxygène et, enfin, diverses substances nutritives.

A. — Effet de la température.

Chez *Pythium deliense*, cultivé sur farine de Maïs-agar, les organes sexuels se développent rapidement aux températures allant de 25 à 35°C. Aux températures très élevées, comme aux températures très basses, ces organes n'ont pas été obtenus, même après 120 heures. L'optimum est entre 30 et 35°.

TEMPÉRATURE	TEMPS APRÈS LESQUELS SONT APPARUS LES ORGANES SEXUELS, SUR MILIEU A LA FARINE DE MAIS-AGAR. A 1.5 %
40°C	pas d'organes sexuels.
38°C	pas d'organes sexuels.
35°C	apparition après environ 12 à 18 heures.
30°C	apparition après environ 12 à 18 heures.
25°C	apparition après environ 27 à 30 heures.
20°C	apparition après environ 55 heures.
15°C	pas d'organes sexuels.
10°C	pas d'organes sexuels.

Pour les autres Champignons ces durées, à 30° et sur les mêmes milieux, ont été pour :

Pythium mamillatum : environ 48 heures.

Pythium de Baryanum : environ 72 heures.

Pythium indigojerae : environ 96 heures.

Aux températures inférieures à 30°, soit 25 ou 20°, ces mêmes organes apparaissent d'abord chez *P. deliense*, puis chez *P. de Barryanum*, ensuite chez *P. mamillatum*, enfin chez *P. indigoferae*. On peut ranger les Champignons dans le même ordre décroissant quant à la production *quantitative* des organes sexuels.

A titre de comparaison nous rappellerons que, chez *Leptolegnia caudata*, COUCH (1932) a constaté qu'à haute température (27-35°C) la formation des organes sexuels est complètement empêchée.

B. — Effet du pH du milieu sur la formation des organes sexuels chez *Pythium deliense*.

On sait, depuis PELTIER (1912), que chez *Botrytis cinerea* Fr. le mycélium devient stérile quand l'acidité du milieu s'accroît considérablement, tandis qu'avec une alcalinité forte les sclérotés diminuent et que les conidies augmentent. BACH (1925, p. 184), étudiant *Aspergillus repens* de Bary, a constaté que « les périthèces ne peuvent évoluer qu'au contact d'un milieu moins acide que pH 3.6. La formation des conidies est entravée par les milieux très acides (pH 3.) Les milieux neutres ou alcalins ont, sur leur apparition, une action nettement favorisante ».

COUCH (1932) a cultivé *Leptolegnia caudata* sur de l'eau provenant d'un puits artésien, qu'il acidifiait ou alcalinisait, et il a trouvé que sur les milieux à pH 5 et 7 il se formait un très grand nombre d'oogones dans certaines cultures, tandis qu'il y en avait peu dans une culture à pH 4.2 et pas du tout sur des milieux ayant d'autres pH.

De nombreux auteurs ont essayé de faire germer des spores de Champignons sur des milieux à pH très divers et montré combien ce facteur d'acidité importait dans le phénomène. C'est ainsi que DOSDALL (1923), expérimentant avec des spores d'*Helminthosporium sativum*, conclut que les spores germent mieux sur des solutions alcalines que sur des solutions acides et qu'elles supportent même un haut degré d'alcalinité.

MITRA et MEHTA (1934), sur *Helminthosporium nodulosum*, ont indiqué que les spores tolèrent une large échelle de pH allant de pH 3.8 à pH 10, l'optimum étant placé entre 6.5 et 6.9.

Nous avons, de notre côté, essayé de déterminer l'action

exercée par l'acidité du milieu sur la croissance de *P. deliense* et nous avons consigné les résultats de nos expériences dans le tableau suivant :

Tableau indiquant la formation ou l'absence d'organes sexuels par P. deliense, en même temps que la durée nécessaire à leur apparition, à des pH divers et à la température de 27°C.

pH	PRÉSENCE OU ABSENCE D'ORGANES SEXUELS ET TEMPS DE FORMATION.
2.9	Pas d'organes sexuels après 48 heures ; ils apparaissent après environ 100 heures.
4.2	Peu d'organes sexuels après 24 heures.
5.0	Nombreux organes sexuels après 24 heures.
6.2	Quelques organes sexuels après 24 heures.
7.0	Très peu d'organes, le plus petit nombre rencontré, après 24 heures.
7.8	Quelques organes, après 24 heures.
8.4	
9.1	Assez nombreux organes en 24 heures.
9.2	
9.6	
9.8	Quelques organes en 24 heures.
10.3	Pas d'organes en 24 heures, ni même après 100 heures.
10.6	Pas d'organes en 24 heures, ni même après 100 heures.

On peut voir, par le tableau qui précède, combien le pH du milieu influe sur la formation des organes sexuels. A pH 4.2 et 9.8 il s'en forme peu, mais à pH 2.9 et 10.3 il n'en apparaît pas du tout, même après 4 jours. Le plus petit nombre a été rencontré à pH 7, tandis que des pH comme 8.4 à 9.6 sont favorables et que, du côté alcalin, le temps nécessaire pour leur formation est encore comparativement moindre qu'à pH 5.0.

Bref, j'ai constaté que, pour la formation des organes sexuels de ce *Champignon*, des milieux alcalins ou acides peuvent être propices, mais que le végétal manifestait une préférence pour les milieux alcalins. De toute façon, une acidité trop grande, et *vice versa*, retarde, puis arrête, la formation des organes sexuels. On peut ainsi le comparer à *Léptolegnia* (COUCH) puisque chez celui-ci, également, la formation des organes sexuels est arrêtée sur des milieux dont la

concentration en ions H est trop élevée : 3.8, 3.6, etc. Mais chez *Leptolegnia* il n'apparaît pas d'organes sexuels sur des milieux alcalins, tandis que *P. deliense* en forme de préférence dans ces conditions.

C. — Effet de la lumière et de l'obscurité. -

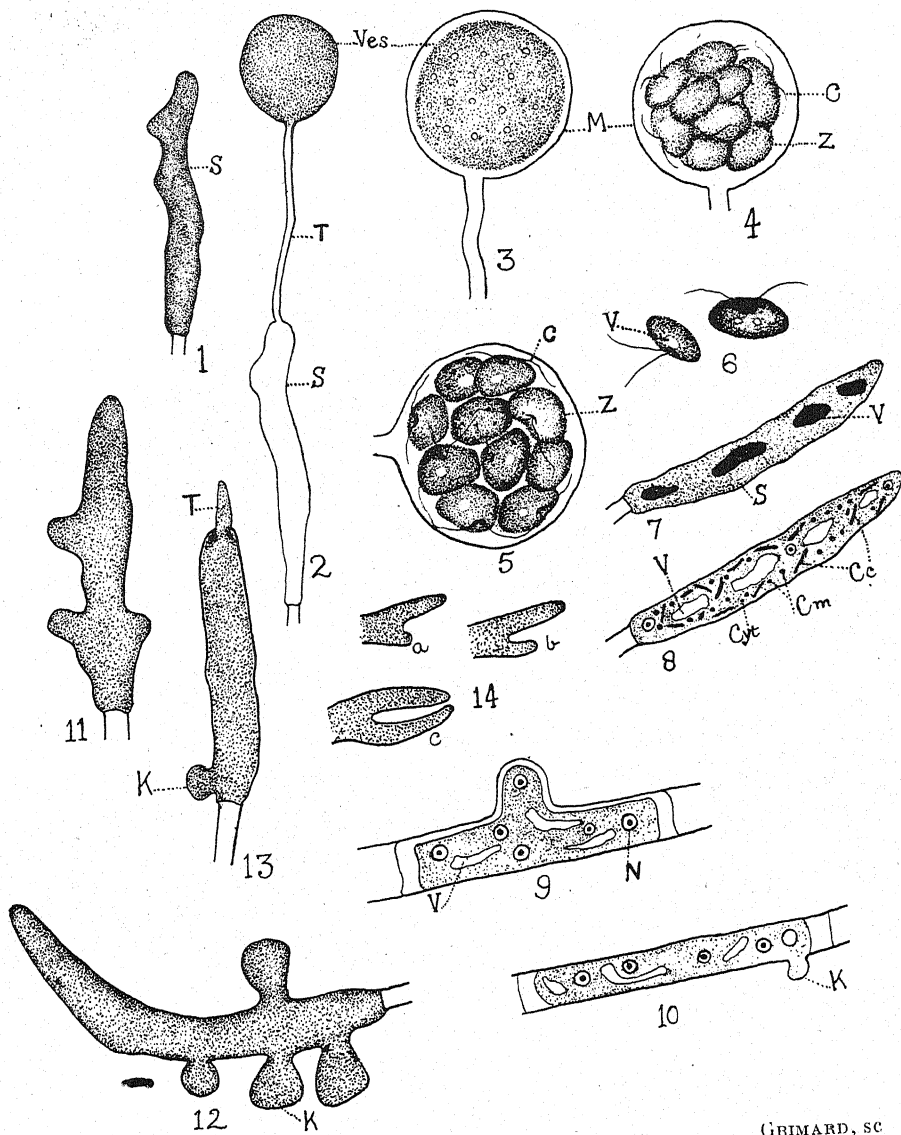
Les quatre Champignons ont été ensemencés en boîte de Petri sur agar à la farine de Maïs et sur Carotte. La moitié de ces boîtes, pour chaque Champignon, a été enveloppée dans du papier noir, l'autre moitié demeurant à découvert. Les boîtes furent portées dans la chambre noire, éclairée par une lampe Osram de 200 w. qui brûlait nuit et jour. L'examen des boîtes eut lieu 5 jours après et on trouva, dans toutes, des organes reproducteurs. La température de la pièce était d'environ 25 à 27°.

Les mêmes expériences ont été reprises, après suppression de la source lumineuse ; dans ce cas encore les organes sexuels se sont formés.

On a prélevé des fragments du mycélium aérien de *P. deliense* cultivé sur Pomme de terre, et on les a portés sur solution de Petri, dans de petites boîtes de Petri qui furent ensuite exposées à la lumière solaire directe de 7 h. à 18 h. ; la température oscillant entre 25 et 32°. Cette fois encore on obtint la formation d'organes reproducteurs.

Il est ainsi prouvé que ni la lumière, ni l'obscurité, n'arrêtent la formation des organes sexuels et ceci concorde avec les résultats de COUCH (1932) sur *Leptolegnia caudata*. Le même auteur a, néanmoins, montré que ces facteurs entraient en jeu chez certains Champignons aquatiques, tel *Aphanomyces exoparasiticus* (1926).

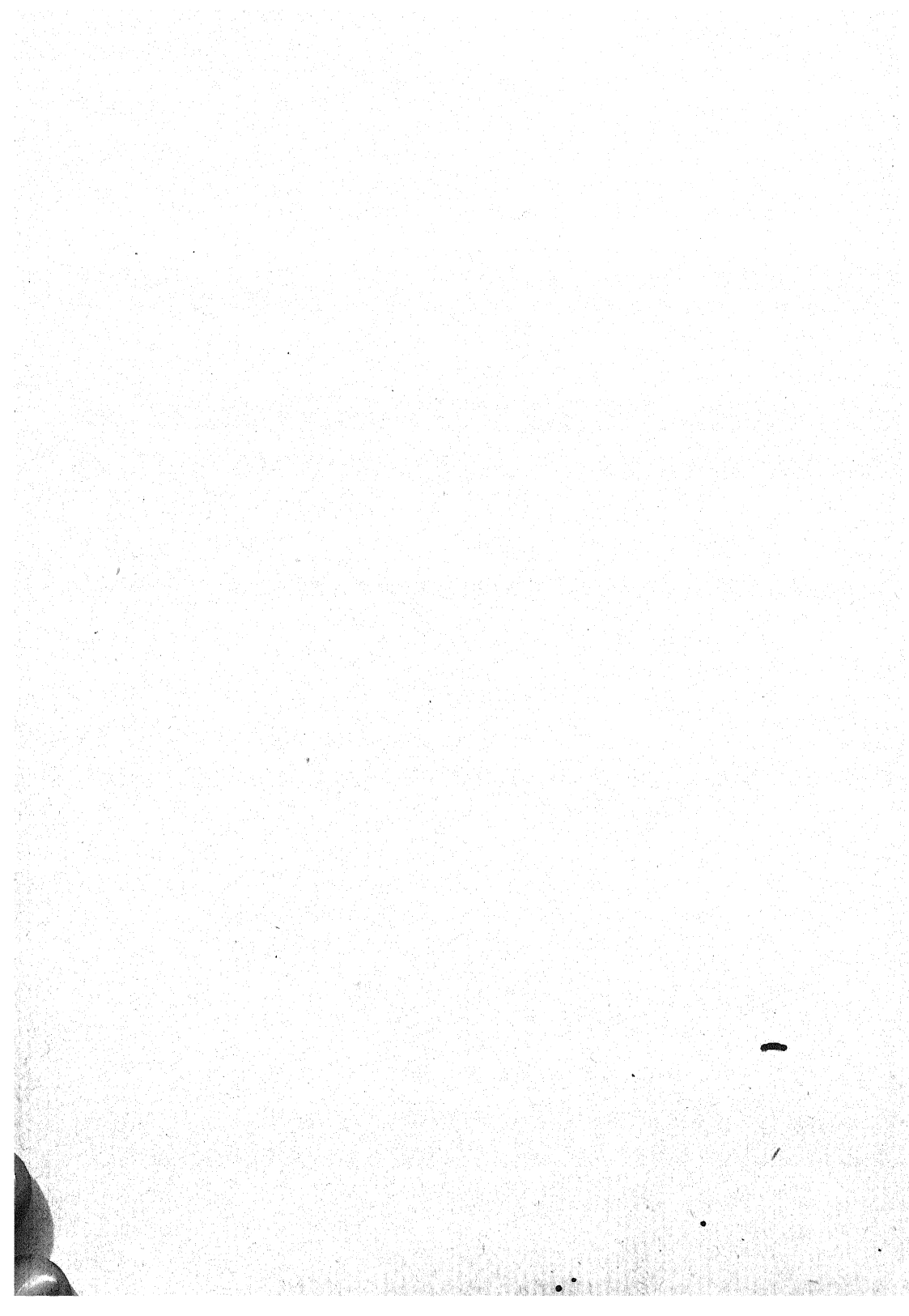
(A suivre.)

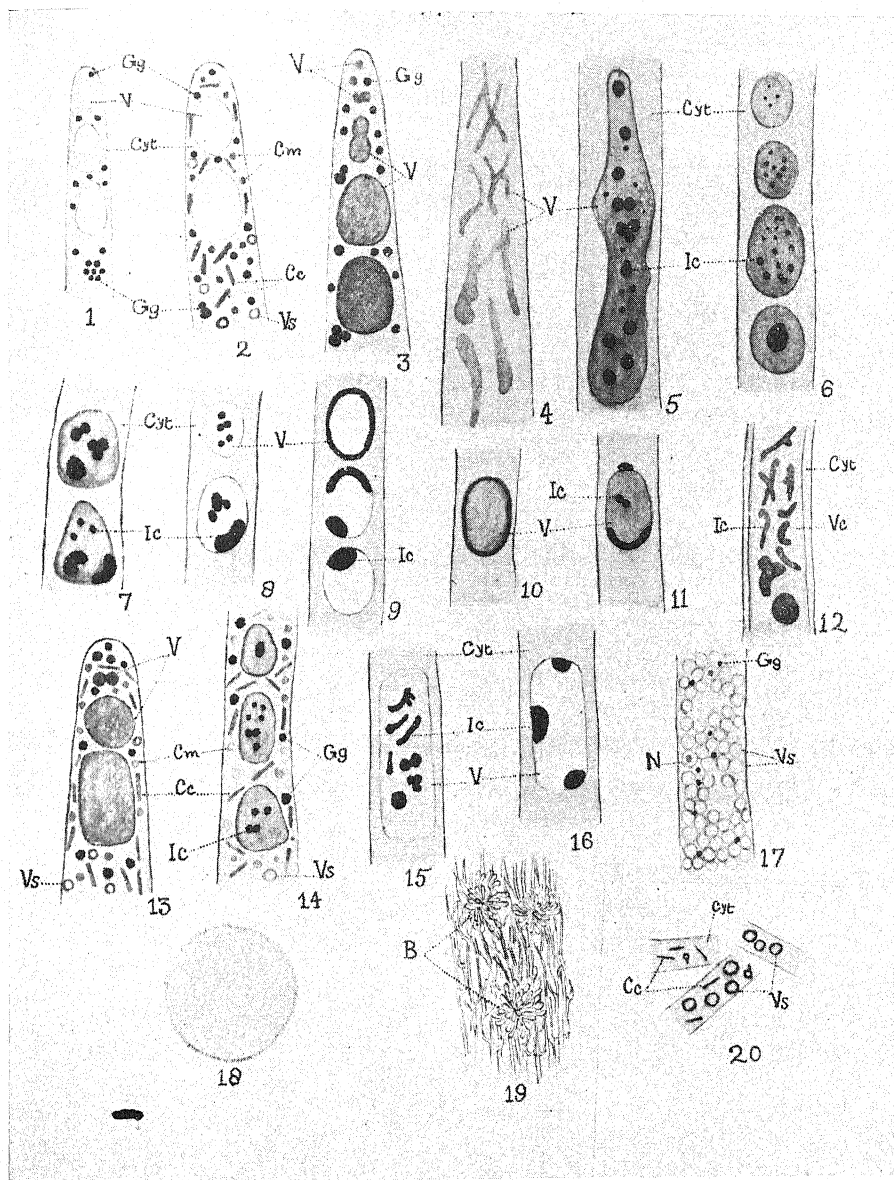


R. K. SAKSENA, del.

GRIMARD, sc

Pythium deliense.

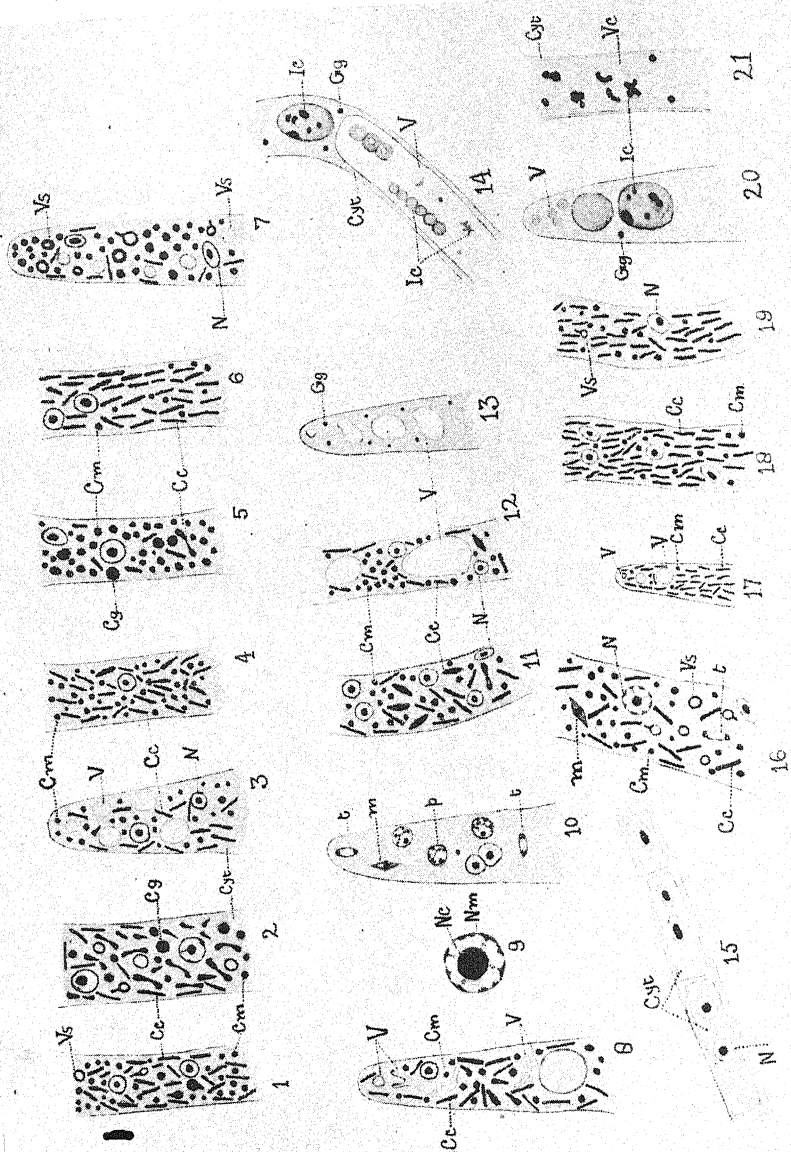




R. K. SAKSENA, del.

GRIMARD, sc.

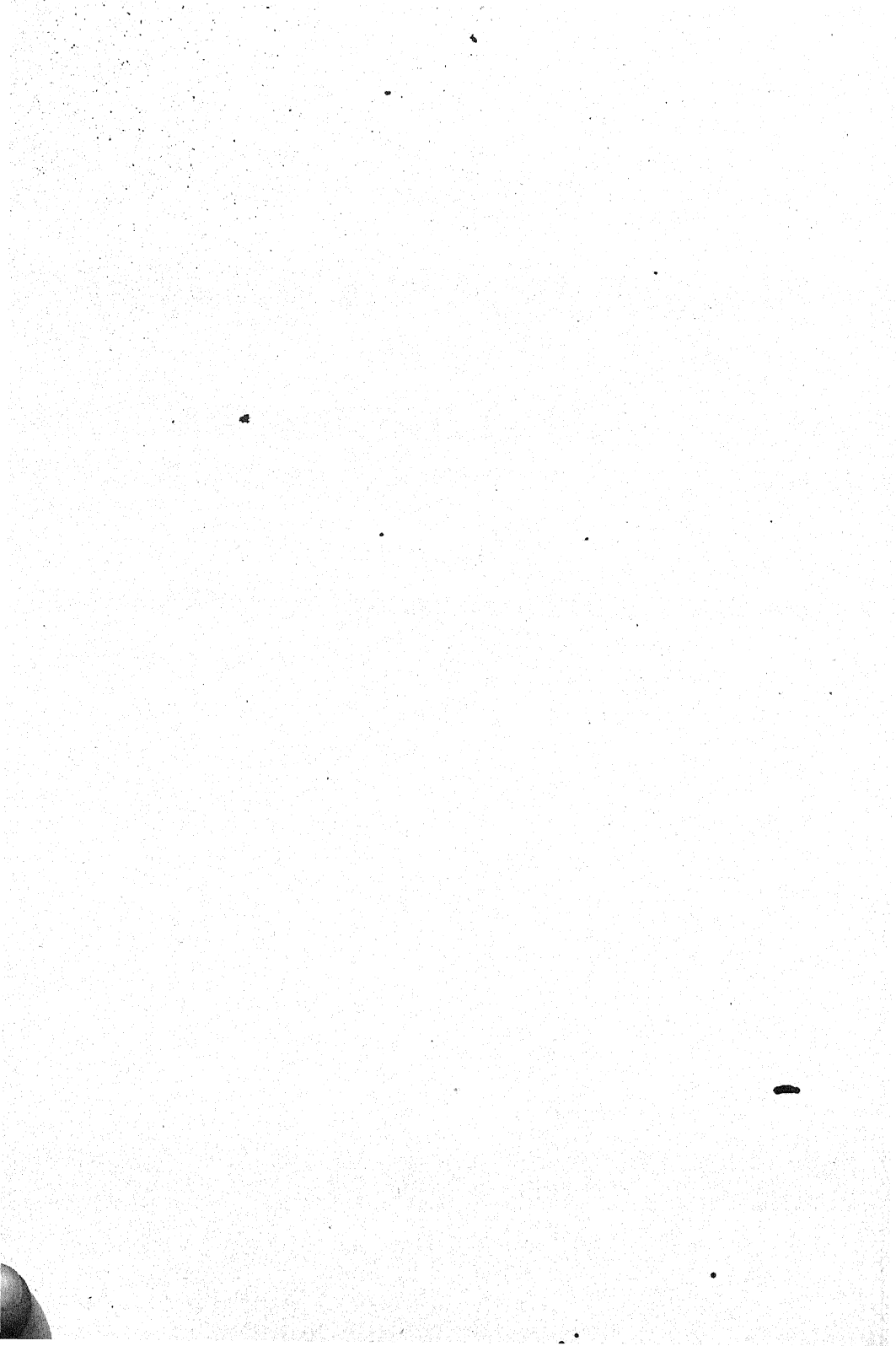
Pythium deliense.

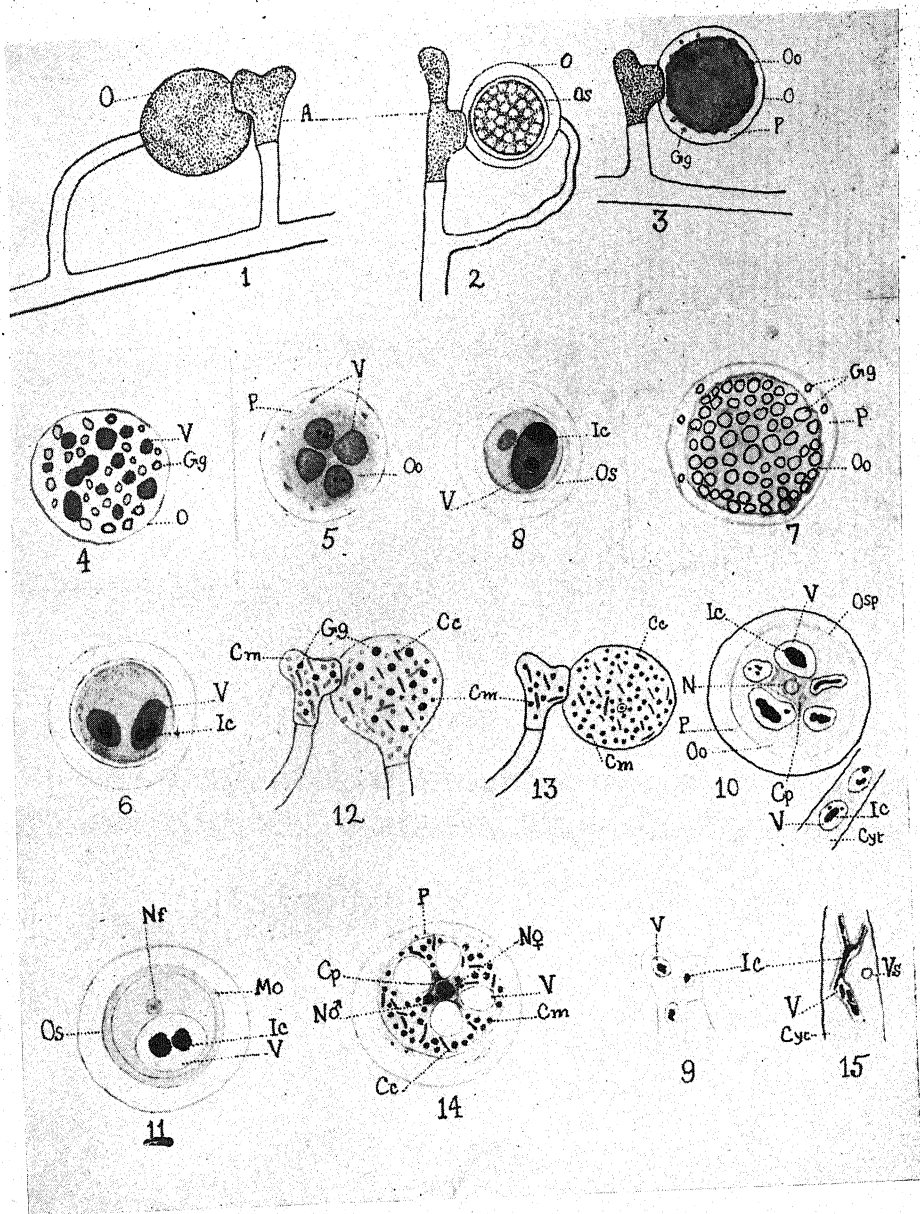


GRIMARD. SC.

R. K. SAKSENA, del.

Pythium deliense, de *Baryanum*, *mamillatum* et *indigoferae*.



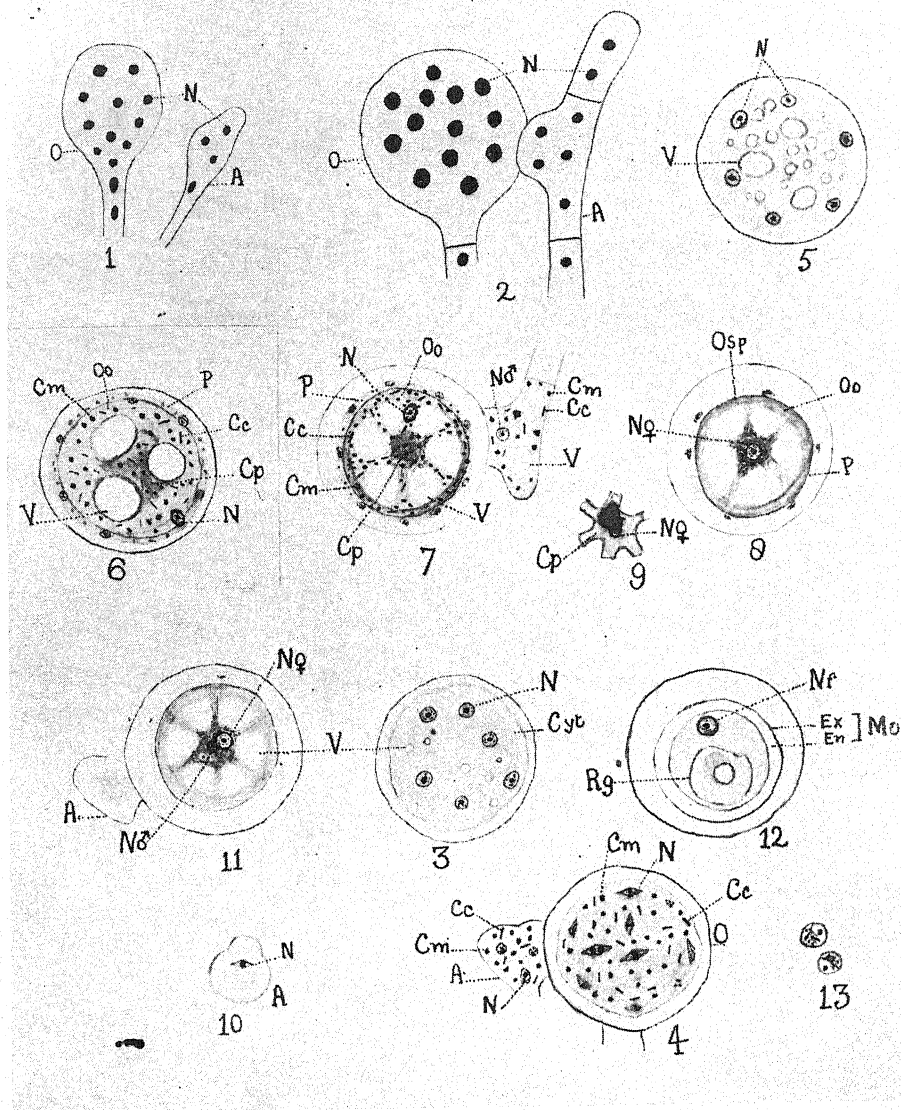


R. K. SAKSANA, del.

GRIMARD, sc.

Pythium deliense et *mamillatum*.

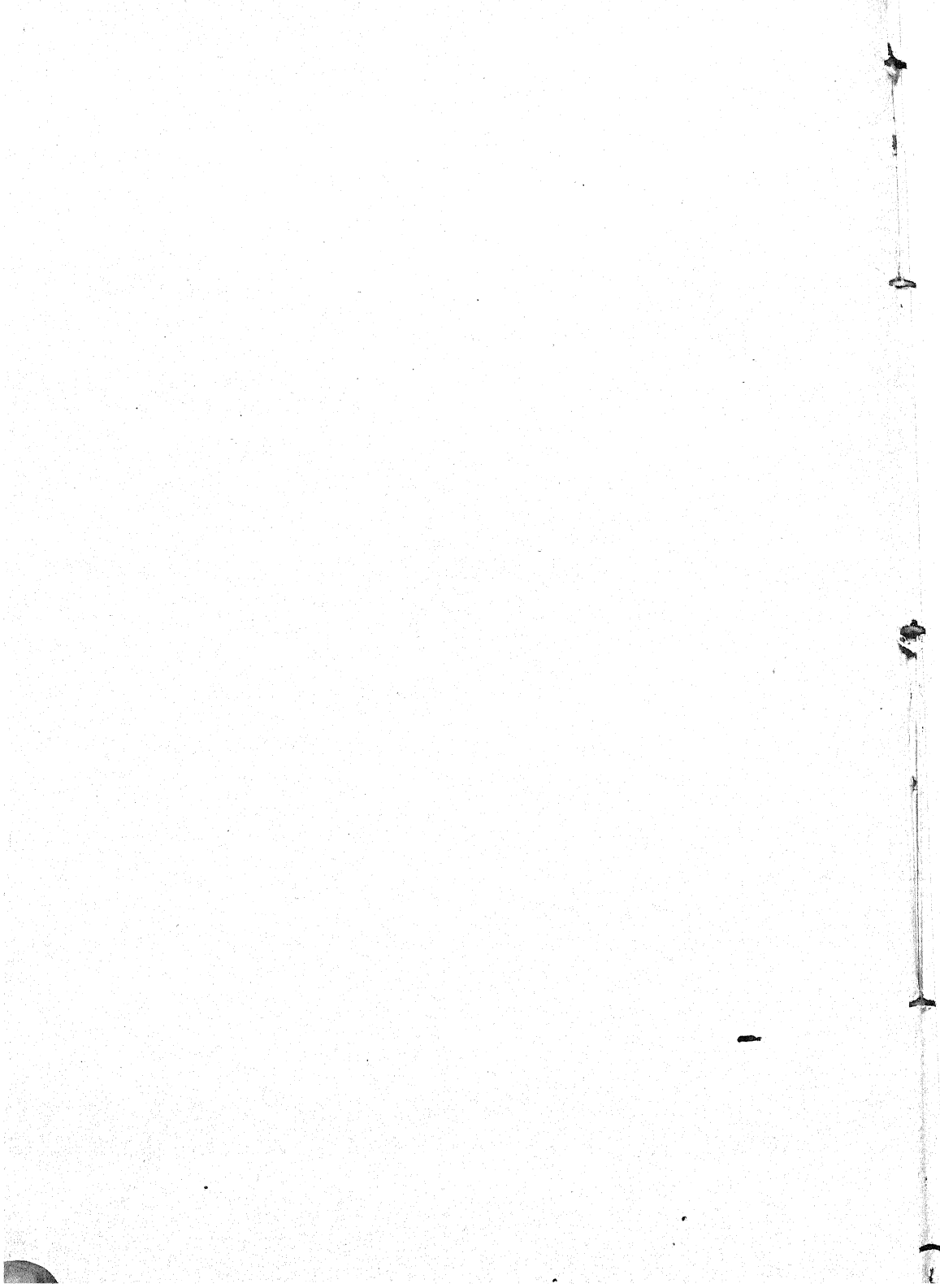


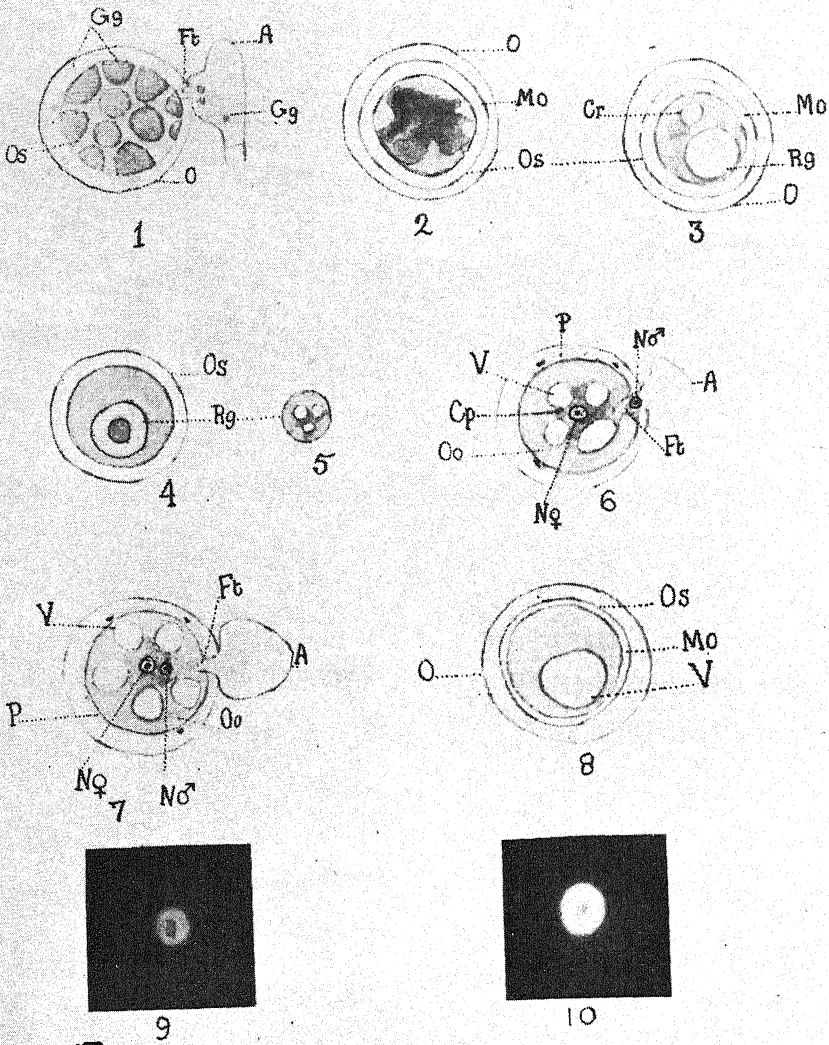


R. K. SAKSENA, del.

GRIMARD, sc.

Pythium delianse.



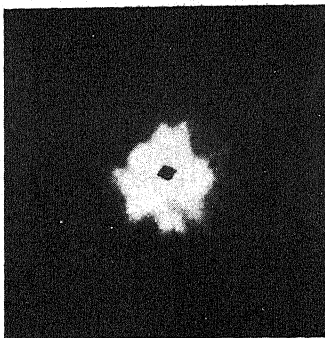
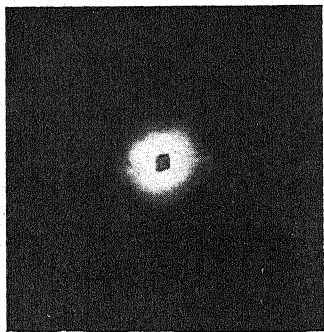


R. K. SAXENA. del.

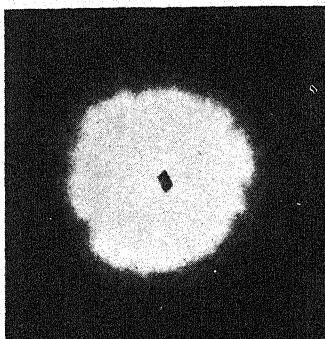
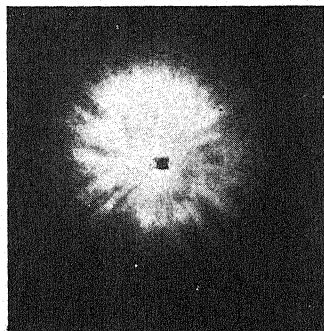
GRIMARD. sc.

Pythium deliense.

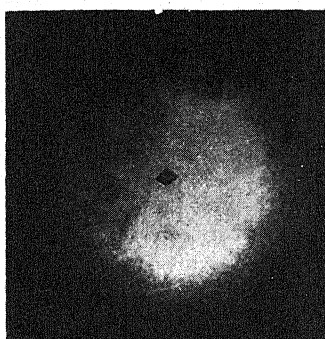
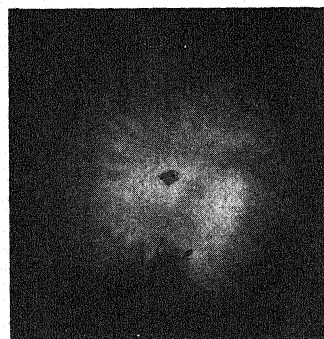
Ind.



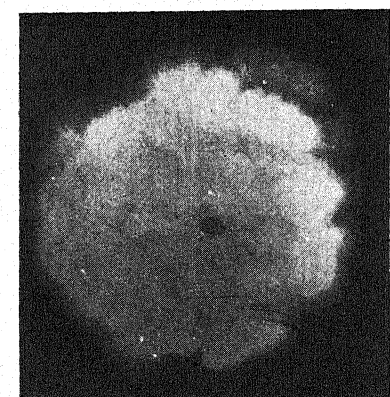
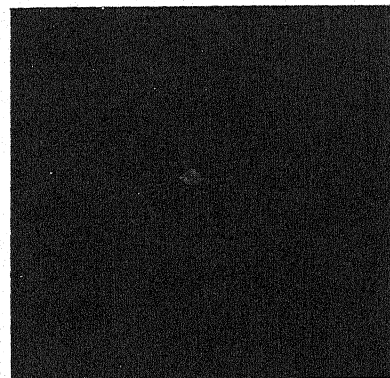
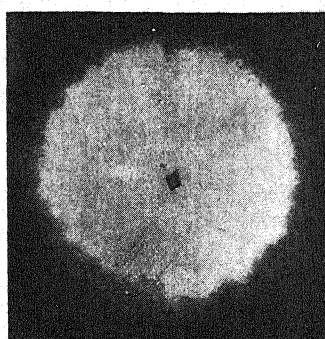
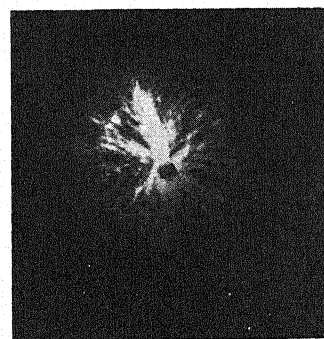
Mam.



Deb.



Del.



0 1 2 3 4 5 6 7 8 cm.

R. K. SAKSENA, del.

Pythium indigoferae, *mamillatum*, *de Baryanum* et *deliense*.

GRIMARD, sc.

ÉTUDE DE LA VARIATION DE LA PERMÉABILITÉ CELLULAIRE EN FONCTION DE LA TEMPÉRATURE

par M. A. FAMIN

HISTORIQUE SUCCINCT DE LA QUESTION

L'étude de la perméabilité cellulaire a fait l'objet de très nombreux travaux. Les méthodes employées ont été rappelées, finement discutées et critiquées par un jeune auteur belge, HOMÈS (4, a, b, c). Il a, lui-même, fait des recherches sur la pénétrabilité du bleu de méthylène dans les cellules des Algues marines : *Cystoseira abrotanifolia* et *Dictyopteris polypodioides* (4 d). Le dosage de la substance est fait colorimétriquement. L'auteur a, de cette façon, examiné successivement l'action de la lumière, de la température (ainsi que la réversibilité de cette action), de la concentration du colorant, de la concentration de l'eau de mer sur la pénétration du bleu de méthylène. En ce qui concerne la température, il constate que la vitesse de pénétration et le pouvoir d'accumulation des cellules augmentent quand cette température elle-même croît.

GOMPEL (3) avait examiné la « Pénétrabilité des acides dans les cellules d'*Ulva lactuca* », à l'aide d'une méthode dite de « réaction » par HOMÈS. Cette méthode est fondée sur le fait que la chlorophylle, sous l'action des acides, se transforme en chlorophyllanes d'un brun jaune pâle. C'est la vitesse de réaction qui sert de critérium à l'expérience. L'auteur a ainsi étudié la vitesse de pénétration de quelques acides en fonction du pH du milieu, et, accessoirement, l'influence de la force centrifuge, de la chaleur, de l'alcool, de l'éther, du chloroforme, de l'acétone. En ce qui concerne l'effet de l'élévation

de chaleur, il chauffait, à une température définie, un fragment d'Algue durant deux minutes, puis mesurait ensuite la vitesse de pénétration de l'acide. Il avait ainsi trouvé qu'à partir de 40° C, la pénétrabilité croît en fonction de la température.

TECHNIQUE UTILISÉE

Le principe de la méthode employée est le même que celui de la méthode de GOMPEL. Cependant, le temps de chauffage adopté par cet auteur (2 minutes) est, d'une part, arbitraire, et, d'autre part, me paraît insuffisant. Le pH du liquide d'expérience (1,4) amène une réaction trop rapide, ce qui rend la mesure du temps aléatoire. C'est ainsi qu'il me semble difficile d'évaluer des différences de temps de deux secondes (et même plus encore), dans de telles conditions expérimentales.

Le pH uniforme que j'ai adopté est de 3,4. Les temps mesurés l'ont été en minutes, et leur durée très suffisamment considérable.

Les différentes températures et leur constance ont été obtenues avec le bloc de CARDOT-LAUGIER-LEGENDRE (1) : il a été possible d'avoir ainsi des températures s'échelonnant de 25 à 52° ; lorsque l'appareil est réglé, elles ne varient pas, ainsi que je m'en suis assuré.

Les deux Algues étudiées furent *Ulva lactuca* et *Enteromorpha compressa*.

Pour la première d'entr'elles, des rondelles de 18 mm. de diamètres furent découpées dans un thalle intact, bien vert et en excellent état ; le nombre des disques était suffisant pour la série de mesures portant sur un même acide.

Pour la seconde Algue, deux ou trois filaments par tube (soit une trentaine en tout), bien vigoureux et bien verts, étaient utilisés.

L'Algue ou la rondelle était mise dans 10 cm³ d'eau de mer contenant une quantité suffisante de l'acide étudié pour les amener à un pH de 3,4. Afin d'éviter toute cause d'erreur du fait des réactions chimiques dans ce milieu, la solution était préparée la veille et mise en équilibre de température avant l'expérience.

Les colorations obtenues ont été comparées à celle que donne, au bout d'un laps de temps variant de 12 à 20 minutes suivant les acides, la température la plus élevée obtenue (généralement aux environs de 50°C). L'échantillon ainsi traité était remis dans l'eau

de mer normale où la teinte qu'il avait demeurait intacte et servait alors de teinte étalon.

Les tubes à essai contenant liquide et Algue étaient soigneusement bouchés afin d'éviter toute perte d'eau, et même d'acide dans le cas des acides volatils, et, ainsi, toute variation de concentration était éliminée. D'ailleurs, dans le cas de ces acides volatils (HCl par exemple), il m'a été facile de remarquer que tout fragment de plante demeurant dans l'atmosphère sans plonger dans le liquide, ne changeait pas de coloration.

J'ai finalement étudié, afin d'infirmar par avance certaines critiques possibles, l'action de l'acide sulfurique sur la chlorophylle extraite de l'Ulve, ainsi que celle de l'élévation de température sur l'Algue mise dans l'eau de mer ordinaire.

Acides étudiés

Acides minéraux : HCl, $\text{NO}^3 \text{H}$, $\text{SO}^4 \text{H}^2$, $\text{PO}^4 \text{H}^3$.

Acides organiques : $\text{CH}^3 - \text{COOH}$ (acide acétique).

$\text{H} - \text{COOH}$ (acide formique).

$\text{CH}^3 - \text{CHOH} - \text{COOH}$ (acide lactique).

RÉSULTATS

Présentation des résultats. Pour chacun des acides utilisés, il a été indiqué avec précision la composition de l'eau de mer, amenée au $\text{pH}=3,4$. Dans un premier tableau, ont été rapportés, pour chaque espèce d'Algue, les températures mesurées en degrés C, les temps évalués en minutes, et les vitesses relatives obtenues en divisant, afin d'éviter les nombres décimaux, 10.000 par le temps compté en minutes. Dans un second tableau, pour mieux mettre en évidence les différences amenées par l'élévation de la température, ont été indiqués : les intervalles entre deux températures successives, l'accroissement de la vitesse de pénétration (ou accélération) par intervalle, l'accélération par degré C, la seule qui permette des comparaisons, et la température moyenne de l'intervalle considéré (moyenne arithmétique des deux températures extrêmes arrondie au $1/4$ de degré). Deux tableaux terminaux rassemblent les principaux résultats obtenus. Les courbes des différentes vitesses aux différentes températures ont été construites pour tous les acides, et celles des accélérations pour l'acide chlorhydrique et l'acide formique seulement.

Acide chlorhydrique.

Composition de l'eau de mer acide :

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{HCl à } 23^{\circ}\text{B} \text{ — densité } 1,19 \text{ (0 gr. 443 d'acide par cm}^3\text{)} : 1 \text{ cm}^3 \\ \text{Eau de mer : } 1.000 \text{ cm}^3 \\ \text{pH} = 3,4 \end{array} \right.$$

Résultats.

Températures	<i>Ulva lactuca</i>		<i>Enteromorpha</i>	
	Temps en minutes	Vitesses	Temps	Vitesses
		$V = \frac{10.000}{T}$		
26°5	130	77	115	87
28°	119	84	102	98
29°75	107	93	92	109
31°75	93	108	81	123
34°	80	125	66	152
36°75	50	200	49	204
39°25	46	217	46	217
42°75	35	286	38	263
46°	28	357	28	357
49°5	15	667	15	667

Intervalles entre 2 tempé- ratures succes- sives	Accélérations (Différences entre 2 vi- tesses successives)		Accélérations par degré		Températures moyennes pour l'intervalle
	<i>Ulva</i>	<i>Ent.</i>	<i>Ulva</i>	<i>Ent.</i>	
1°5	7	11	4,6	7,3	27°25
1°75	9	11	5,1	6,9	28°7/8
2°	15	14	7,5	7	30°75
2°25	17	29	7,6	12,9	32°7/8
2°5	75	52	30	20,8	35°25
2°75	17	13	6,5	4,7	37°5/8
3°5	69	46	19,7	13,1	41°
3°25	71	94	21,8	28,9	44°3/8
3°5	310	310	88,6	88,6	47°75

acide azotique.

Constitution de l'eau de mer acide :

$\left\{ \begin{array}{l} \text{NO}^3\text{H à } 40^\circ\text{B} \text{ — densité } 1,38 \text{ (renfermant } 0 \text{ gr. } 857 \text{ d'acide par cm}^3\text{):} \\ \quad \quad \quad 1 \text{ cm}^3 \\ \text{Eau de mer : } 2.000 \text{ cm}^3 \\ \text{pH} = 3,4. \end{array} \right.$

Résultats.

Températures	<i>Ulva lactuca</i>		<i>Enteromorpha compressa</i>	
	Temps	Vitesses	Temps	Vitesses
28°5	112	89	100	100
30°25	97	103	85	118
32°25	84	119	73	137
34°25	72	139	62	161
37°25	51	196	51	196
40°25	48	208	41	243
42°25	44	227	37	270
44°5	40	250	31	323
47°25	28	357	25	400
50°75	20	500	20	500

Intervalles entre 2 températures successives	Accélérations		Accélérations par degré		Températures moyennes
	<i>Ulva</i>	<i>Enter.</i>	<i>Ulva</i>	<i>Enter.</i>	
1°75	14	18	8	10,3	29°25
2°	16	19	8	9,5	31°25
2°	20	24	10	12	33°25
3°	57	35	19	11,7	35°75
3°	12	47	4	14,7	38°75
2°	19	27	9,5	13,5	40°75
2°25	23	53	10,2	23,6	43°5
2°75	107	77	38,9	28	46°
3°5	143	100	40,1	28,6	49°

Acide sulfurique.*Constitution du liquide :*

$\left\{ \begin{array}{l} \text{SO}_4\text{H}_2 \text{ à } 66^\circ\text{B} \text{ — densité } 1,841 \text{ (0 gr. 857 d'acide par cm}^3\text{)} : 1 \text{ cm}^3. \\ \text{Eau de mer : } 3.000 \text{ cm}^3 \\ \text{pH} = 3,4. \end{array} \right.$

Résultats.

Températures	<i>Ulva lactuca</i>		<i>Enteromorpha compressa</i>	
	Temps	Vitesses	Temps	Vitesses
28°5	93	108	69	145
30°25	80	125	59	169
32°25	67	149	51	196
34°25	56	179	44	227
36°5	45	222	32	312,5
39°	32	312	28	357
41°75	28	357	22	455
44°75	19	526	19	526
47°75	16	625	15	667
51°	12	833	12	833

Intervalles entre 2 températures successives	Accélérations		Accélérations par degré		Températures moyennes
	<i>Ulva</i>	<i>Enter.</i>	<i>Ulva</i>	<i>Enter.</i>	
1°75	17	24	9,7	13,7	29°25
2°	24	27	12	13,5	31°25
2°	30	31	15	15,5	33°25
2°25	43	85,5	19,1	38	35°5
2°5	90	44,5	36	17,8	37°75
2°75	43	98	15,6	35,6	40°5
3°	69	71	23	23,7	43°25
3°	99	141	33	47	46°25
3°25	208	166	64	51,1	49°5

Acide orthophosphorique.

Constitution de l'eau de mer acide :

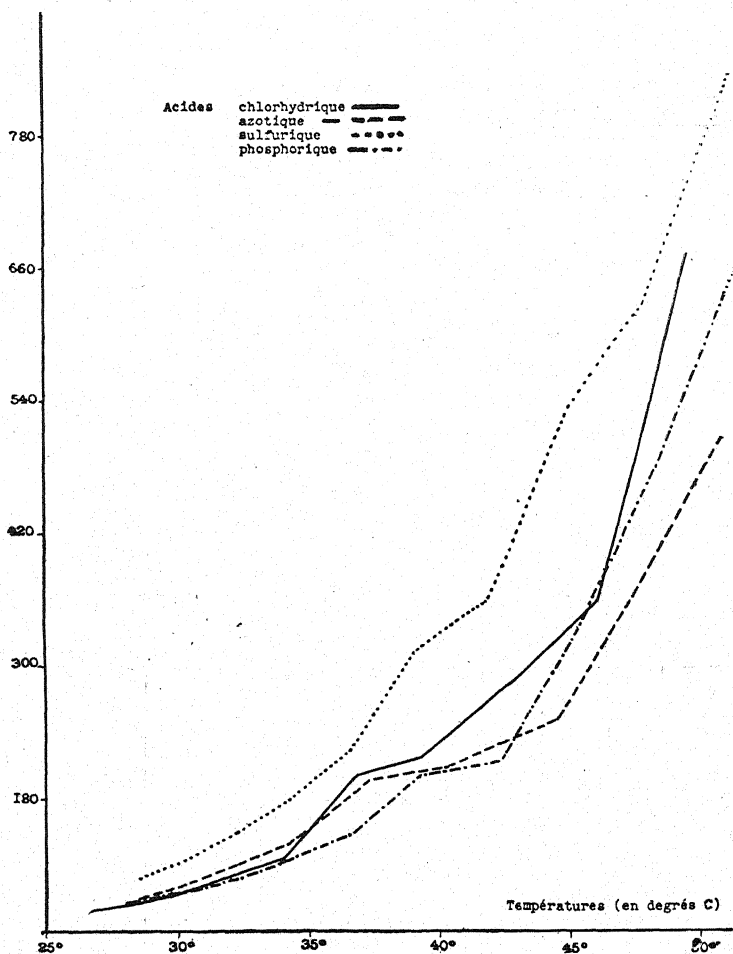
$$\left\{ \begin{array}{l} \text{PO}_4\text{H}^3 \text{ à } 60^\circ\text{B} \text{ — densité } 1,71 \text{ (contenant } 1 \text{ gr. } 37 \text{ d'acide par litre)} \\ \quad \quad \quad 1 \text{ cm}^3 \\ \text{Eau de mer } 3.000 \text{ cm}^3 \\ \text{pH} = 3,4. \end{array} \right.$$

Résultats.

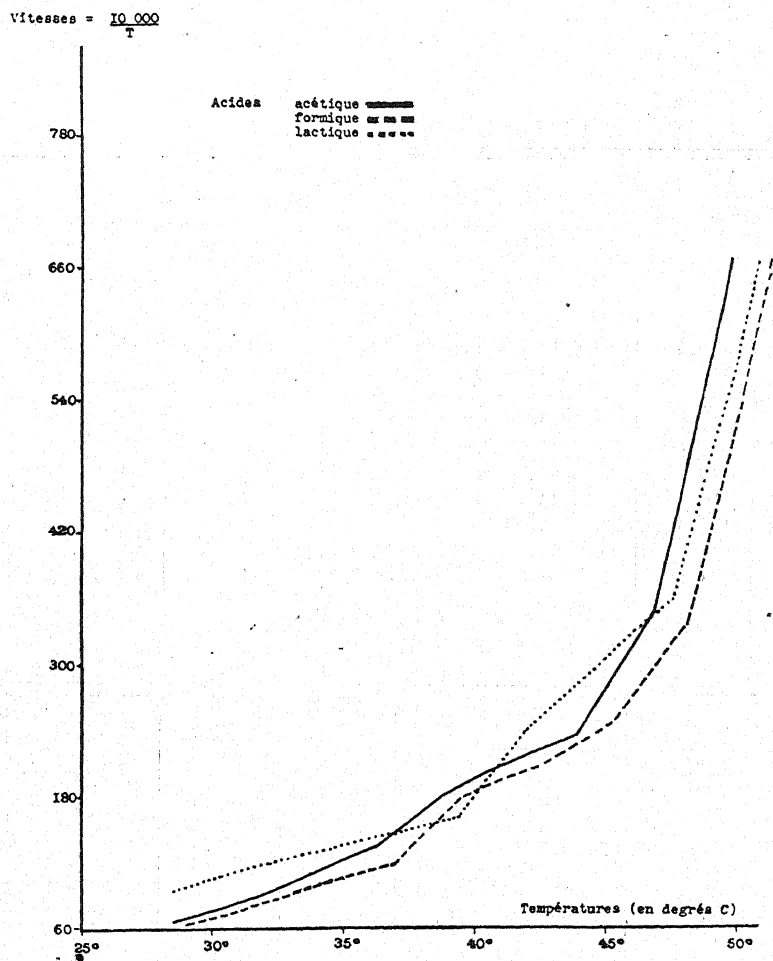
Températures	<i>Ulva lactuca</i>		<i>Enteromorpha compressa</i>	
	Temps	Vitesses	Temps	Vitesses
28°	121	83	130	77
29°75	106	94	103	97
32°	93	108	82	122
34°	81	123	67	149
36°5	68	147	56	179
39°25	50	200	50	200
42°25	47	213	41	244
45°25	30	333	29	345
48°25	21	476	19	526
51°50	15	667	15	667

Intervalles entre 2 températures successives	Accélérations		Accélérations par degré		Températures moyennes de l'intervalle
	<i>Ulva</i>	<i>Enter.</i>	<i>Ulva</i>	<i>Enter.</i>	
1°75	11	20	6,3	11,4	29°
2°25	14	25	6,2	11,1	31°
2°	15	27	7,5	13,5	33°
2°5	24	30	9,6	12	35°25
2°75	53	21	19,3	7,6	38°
3°	13	44	4,3	14,7	40°75
3°	120	101	40	33,7	43°75
33°	143	181	47,7	60,3	46°75
3°25	191	141	58,8	43,4	49°75

$$\text{Vitesse} = \frac{10.000}{T}$$



Graphique n° 1. — Courbes représentatives de la vitesse de pénétration de quatre acides minéraux en fonction de la température dans les cellules d'*Ulva lactuca*.



Graphique n° 2. — Courbes représentatives de la vitesse de pénétration de quatre acides minéraux en fonction de la température dans les cellules d'*Enteromorpha compressa*.

Acide acétique.

Constitution de l'eau de mer acide :

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{CH}^3 - \text{COOH} \text{ cristallisable à } 1 \text{ gr. } 05 \text{ par cm}^3 : \quad 12 \text{ cm}^3 \\ \text{Eau de mer :} \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad 1.000 \text{ cm}^3 \\ \text{pH} = 3,4 \end{array} \right.$$

Résultats.

Températures	<i>Ulva lactuca</i>		<i>Enteromorpha compressa</i>	
	Temps	Vitesses	Temps	Vitesses
28°5	148	68	129	78
30°	126	79	112	89
32°	107	93	95	105
33°75	90	111	80	125
36°25	74	135	66	167
38°75	56	179	48	208
41°25	48	208	42	238
44°	43	233	38	263
47°	29	345	26	385
50°	15	667	15	667

Intervalles entre 2 températures successives	Accélérations		Accélérations par degré		Températures moyennes
	<i>Ulva</i>	<i>Enter.</i>	<i>Ulva</i>	<i>Enter.</i>	
1°5	11	11	7,3	7,3	29°25
2°	14	16	7	8	31°
1°75	18	20	10,3	11,4	33°
2°5	24	42	9,6	16,8	35°
2°5	44	41	17,6	16,4	37°5
2°5	29	30	11,6	12	40°
2°75	25	25	9,1	9,1	42°5
3°	112	122	37,3	40,7	45°5
3°	322	282	107,3	94	48°5

Acide formique.*Constitution de l'eau de mer acide :*

$\left\{ \begin{array}{l} \text{H} - \text{COOH} \text{ à } 80\% - \text{contenant } 0 \text{ gr. } 9488 \text{ d'acide par cm}^3 : 1 \text{ cm}^3 6 \\ \text{Eau de mer : } 1.000 \text{ cm}^3 \\ \text{pH} = 3,4. \end{array} \right.$

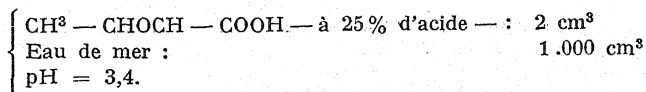
Résultats.

Températures	<i>Ulva lactuca</i>		<i>Enteromorpha compressa</i>	
	Temps	Vitesses	Temps	Vitesses
29°	159	63	174	57
30°75	135	74	143	70
32°50	115	87	117	85
34°50	98	102	95	105
37°	85	118	80	125
39°50	56	179	53	189
42°50	49	204	46	217
45°25	41	244	41	244
48°25	30	333	25	400
51°50	15	667	15	667

Intervalles entre 2 températures successives	Accélérations		Accélérations par degré		Températures moyennes
	<i>Ulva</i>	<i>Enter.</i>	<i>Ulva</i>	<i>Enter.</i>	
1°75	11	13	6,8	7,4	30°
1°75	13	15	7,4	8,4	31°5
2°	15	20	7,5	10	33°5
2°5	16	20	6,4	8	35°75
2°5	61	64	24,4	25,6	38°25
3°	25	28	8,3	9,3	41°
2°75	40	27	14,5	9,8	44°
3°	89	56	29,7	8,7	46°75
3°25	334	267	102,8	82,1	49°75

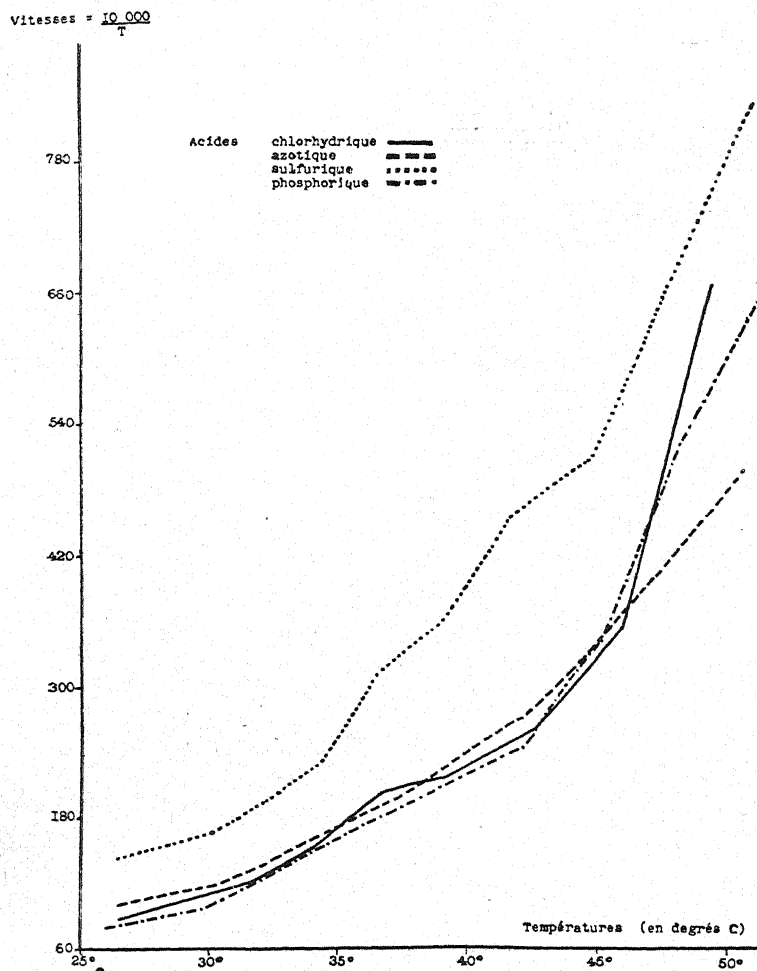
Acide lactique.

Constitution de l'eau de mer acide :

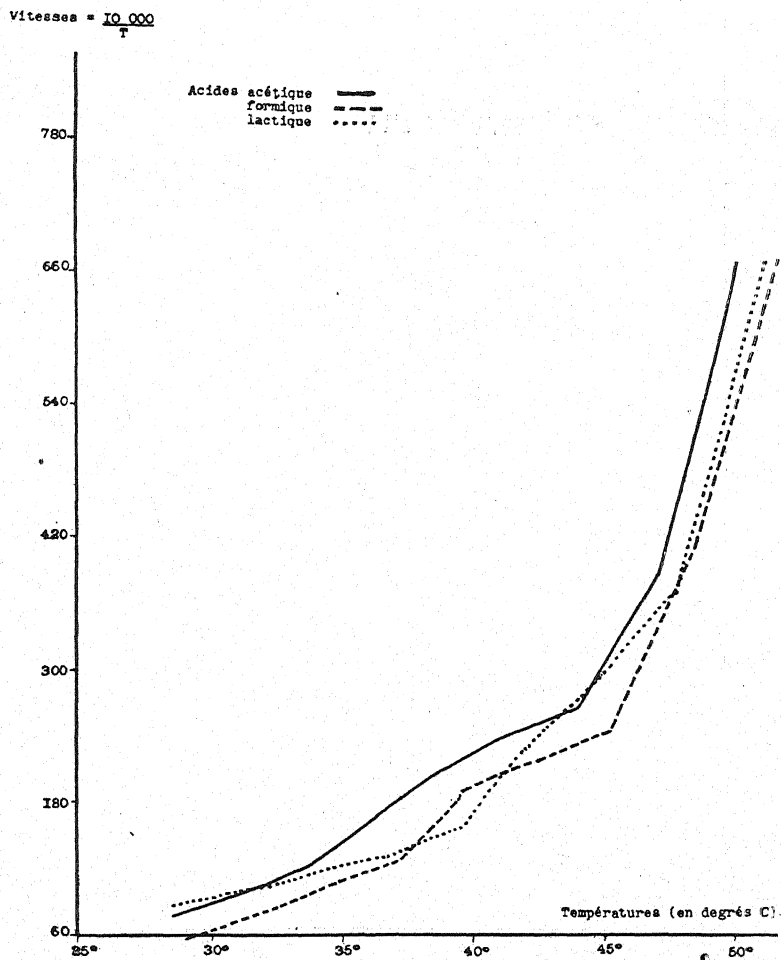
*Résultats.*

Températures	<i>Ulva lactuca</i>		<i>Enteromorpha compressa</i>	
	Temps	Vitesses	Temps	Vitesses
28°5	103	97	115	87
30°25	93	108	109	92
32°25	84	119	96	104
34°25	76	132	85	118
36°75	69	145	77	130
39°5	62	161	64	156
42°	42	238	44	227
44°75	34	294	34	294
47°75	28	357	27	370
51°	15	667	15	667

Intervalles entre 2 températures successives	Accélérations		Accélérations par degré		Températures moyennes
	<i>Ulva</i>	<i>Enter.</i>	<i>Ulva</i>	<i>Enter.</i>	
1°75	11	5	6,8	2,8	29°5
2°	11	12	5,5	6	31°25
2°	13	14	6,5	7	33°25
2°5	13	12	5,2	4,8	35°5
2°75	16	26	5,8	9,4	38°25
2°50	77	71	30,8	28,4	40°75
2°75	56	67	20,4	24,3	43°50
3°	63	76	21	25,3	46°25
3°25	310	297	95,4	91,4	49°25



Graphique n° 3. — Courbes représentatives de la vitesse de pénétration de trois acides organiques en fonction de la température dans les cellules d'*Ulva lactuca*.



Graphique n° 4. — Courbes représentatives de la vitesse de pénétration de trois acides organiques en fonction de la température dans les cellules d'*Enteromorpha compressa*.

TABLEAU DES TEMPÉRATURES

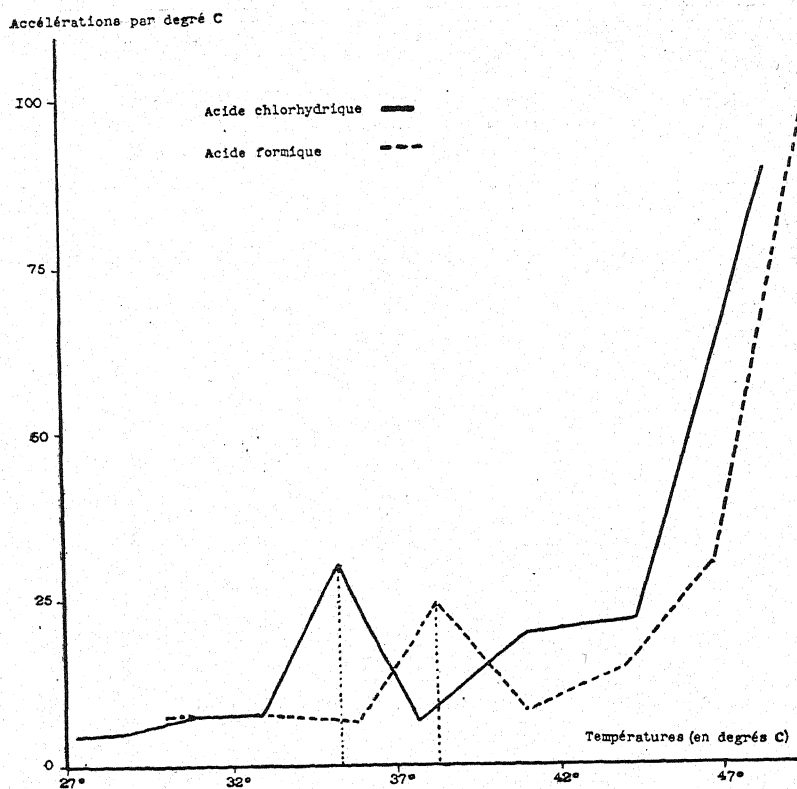
amenant une augmentation, puis une diminution brusque de la vitesse de pénétration de l'acide dans la cellule.

Acides	<i>Ulva lactuca</i>		<i>Enteromorpha compressa</i>	
	Températures d'augmenta- tions maxima	de diminu- tions maxima	Températures d'augmenta- tions maxima	de diminu- tions maxima
HCl	35°25	37°50	35°25	37°50
SO ⁴ H ²	37°75	40°5	35°5	37°75
PO ⁴ H ³	38°	40°75	35°25	38°
NO ³ H	35°75	38°75	38°75	40°75
CH ³ -COOH	37°5	42°5	37°5	42°5
H-COOH	30°25	41°	38°25	41°
CH ³ -CHOH-COOH	40°75	43°50	40°75	43°50
Moyennes des températures :	37°6	40°6	37°3	40°1

TABLEAU DES ACCÉLÉRATIONS

maxima et minima (par degré).

Acides	<i>Ulva lactuca</i>		<i>Enteromorpha compressa</i>	
	maxima	minima	maxima	minima
HCl	30	6,5	20,8	4,7
SO ⁴ H ²	36	15,6	38	17,8
PO ⁴ H ³	19,3	4,3	12	7,6
NO ³ H	19	4	15,7	13,5
CH ³ -COOH	17,6	9,1	16,4	9,1
H-COOH	24,4	8,3	25,6	9,3
CH ³ -CHOH-COOH	30,8	20,4	28,4	24,3



Graphique n° 5. — Courbes représentatives des accélérations, par degré, des vitesses de pénétration de l'acide chlorhydrique et de l'acide formique dans les cellules d'*Ulva lactuca*, en fonction de la température.

OBSERVATIONS

L'examen des nombres ainsi déterminés, de même que celui des courbes représentant les variations de la vitesse de pénétration des acides en fonction de la température (courbes ayant sensiblement la même forme pour tous les acides), montre que cette vitesse croît rapidement quand la température elle-même croît.

GOMPEL (3), HOMÈS (4 d), pour ne citer que les auteurs les plus récents, avaient constaté ce fait : *la pénétrabilité et le pouvoir d'accumulation des cellules pour certains colorants augmentent au fur et à mesure que la température s'élève.*

Mais cet accroissement n'est pas constant, et la considération des accélérations unitaires l'indique avec une grande netteté. Il y a augmentation lente et assez régulière de la vitesse de pénétration des acides jusqu'à une température moyenne de 37°-38°C, suivie d'une brusque, et parfois considérable, diminution à 40-41°C, ces nombres étant sensiblement les mêmes pour *Ulva lactuca* et *Enteromorpha compressa*. Les courbes tracées pour l'acide chlorhydrique et l'acide formique montrent une forte indentation aux environs de ces températures.

Ces constatations sont à rapprocher de celles que j'ai faites à propos de l'action de la chaleur sur la cellule végétale. Des recherches entreprises sur la germination du Pois, la sensibilité du chondriome, les variations du vacuome, les mouvements cytoplasmiques, les allures du noyau et de la caryocinèse, les échanges chimiques avec le milieu, (tout cet ensemble en fonction de la température), m'avaient amené à fixer les zones thermiques cruciales suivantes :

« De 36 à 38°C : Protoplasme fluide et subissant, ainsi que le chondriome, ses premières modifications physiques et chimiques réversibles, si l'action est peu prolongée.

•
Système nucléaire au maximum de développement.

Plus de germination.

« De 41 à 46°C : Maximum de fluidité cytoplasmique.

Zone des modifications irréversibles. » (2).

Les observations rapportées dans le présent mémoire confirment exactement ces conclusions, quant aux températures indiquées et aux variations profondes que la chaleur fait subir au système cellulaire.

Cette coïncidence semble montrer qu'il y a une relation étroite entre la fluidité, l'état physico-chimique du protoplasme, et la pénétrabilité de telle ou telle substance dans la cellule. Ce phénomène n'est pas uniquement lié à la membrane ; il s'agit de modifications infiniment plus complexes que nous connaissons encore peu.

EXPÉRIENCES DE CONTROLE

On peut se demander :

1° Si la variation de coloration observée n'est pas due à la variation de la vitesse d'action chimique de l'acide considéré sur la chlorophylle, et si, en conséquence, il n'a pas été simplement mesuré, comme la forme des courbes pourrait le faire croire, différentes vitesses de réactions en fonction de la température ?

2° Si l'élévation de la température seule, en l'absence de tel ou tel acide, ne serait pas capable d'amener le même changement de coloration du fragment de l'Algue ?

Pour répondre à la première objection, il a été procédé aux essais suivants :

De la chlorophylle a été extraite, par broyage au mortier, de morceaux d'Ulve en présence d'alcool à 90°. A cette solution alcoolique, il a été ajouté de l'acide sulfurique de telle façon que sa dilution soit $\frac{1}{3.000}$, c'est-à-dire la même que celle utilisée dans l'expérience avec l'eau de mer. Le mélange a été réparti par quantités de 4 cm³ dans des tubes à essais bouchés au coton et soumis à des températures s'échelonnant entre 26 et 50°C. Le jaunissement se fait lentement, mais il se fait lentement dans tous les tubes ; et la vitesse reste la même dans toute la gamme des températures examinées. La pénétrabilité, l'état de la cellule, et plus particulièrement de son cytoplasme, interviennent donc au premier chef dans les expériences antérieurement rapportées. C'est une

action d'ordre biologique, et non d'ordre chimique, qui a été étudiée : la seconde a servi de criterium à la première.

La deuxième objection est levée par l'expérience suivante : des disques d'Ulves, mis dans 10 cm³ d'eau de mer et chauffés à des températures allant de 25 à 50°, n'indiquent aucune variation au bout de 2 heures de ce traitement, sauf toutefois une accentuation de la coloration verte pour les températures supérieures à 45° C.

Enfin, des vérifications faites sur l'eau de mer, amenée au pH 3,4 par addition d'acide sulfurique ou d'acide formique, montrent que ce pH ne varie pas de 29 à 51°C.

CONCLUSIONS

Ainsi donc, l'élévation de la température amène un accroissement de la vitesse avec laquelle des acides minéraux et organiques pénètrent dans les cellules d'Algues vertes marines.

Cette augmentation présente des variations singulières : elle croît brusquement vers 36-38°C pour diminuer fortement vers 40-41°C, puis augmenter ensuite considérablement. Ces deux zones de températures correspondent, pour la première, au maximum de labilité du cytoplasme, et, pour la seconde, au début des phénomènes irréversibles dont la chaleur est cause.

Je remercie très vivement M. le Docteur Legendre, Directeur du Laboratoire de Biologie marine de Concarneau (Finistère), à l'amabilité et la compétence duquel je dois d'avoir pu effectuer ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 CARDOT, LAUGIER et LEGENDRE. — Bloc à série de températures constantes. *C.R.A.S. T. CLXXVIII*, p. 81-83. — *C.R. Soc. Biol. T. CXI*, pp. 331-332, 1 fig. — *Recherches et Inventions*, n° 1, pp. 403-405, 4 fig.
 - 2 FAMIN (A.). — Action de la température sur les végétaux. *Thèse Faculté de Paris* 1933. — *Revue gén. Bot. T. 45*. 1933.
 - 3 GOMPEL (M.). — Sur la pénétrabilité des acides dans les cellules d'*Ulva lactuca*. Trav. des Lab. de Roscoff et Concarneau et du Lab. d'Hist. nat. des corps organisés au Collège de France. 1929.
 - 4 HOMÈS (M.). — a) Contribution à l'étude de la perméabilité cellulaire. Les caractéristiques de perméabilité et leur détermination. *Bull. Ac. Roy. de Belgique. Cl. des Sciences. 5^e série T. XVII* n° 3, pp. 409-419.
b) L'Etude de la perméabilité cellulaire chez les végétaux. Considérations générales et Revue critique des méthodes d'étude. *Bull. Soc. Roy. de Belgique. T. LXV*, fasc. 1. 1932.
c) A propos de deux méthodes d'étude de la perméabilité cellulaire chez les végétaux. *Bull. de l'Acad. Roy. de Belgique. Cl. des Sciences. 5^e série. T. XVIII*. 1932. n° 6, pp. 557-572.
d) Recherches sur la perméabilité cellulaire des Algues marines. *Arch. zool. exp. et gén. T. 75*, fasc. 5. 1933. pp. 75-101.
-

CROISSANCE DE DIVERSES BACTÉRIES ACÉTIQUES EN ANAÉROBIOSE

par Mlle Marguerite COZIC

En 1933, il m'a été possible d'obtenir la croissance anaérobie en milieu liquide, sur des colorants convenablement choisis, de *Acetobacter xylinum* (1); en 1935, il m'a été possible de cultiver sur milieu solide, dans des conditions d'anaérobiose très strictes, diverses bactéries acétiques non cétogènes, *A. rancens*, *A. pasteurianum*, *A. melanogenum*, *A. suboxydans*, *A. peroxydans*, souches cultivées au laboratoire du Pr KLUYVER, Delft. Le substrat de croissance était l'alcool à 4%, l'accepteur d'hydrogène, la thionine à 0,5 ou 1 gr. par litre, le tampon du milieu, la craie à 2%; l'autolysat de levure apportait les facteurs indispensables à la croissance. Cet autolysat est préparé en abandonnant à l'étuve à 28° dans un flacon fermé, sous une couche de 1 cm. de toluène, de la levure pressée de boulangerie, plongée dans 3 à 4 fois son poids d'eau. Après 24 heures, le toluène est décanté, l'autolysat chauffé à 95-90° en capsule ouverte pendant 2 heures, puis filtré tiède. Le filtrat clair contient environ 4% d'extrait sec; il est bon de doser l'extrait chaque fois. Cet autolysat s'emploie dilué de 5 ou 10 fois son volume d'eau. Un bouillon de levure ayant la même teneur en extrait sec ne permet pas la croissance des bactéries acétiques en anaérobiose; l'autolyse libère donc des substances nécessaires à la croissance anaérobie.

Les cultures de *A. xylinum* de 1933 avaient été faites dans des tubes à essais étranglés, fermés à la lampe après y avoir fait le vide

(1) M. Cozic. Etude biochimique de *A. xylinum*. *Revue générale de Botanique*, 46, 1, 1934.

au moyen d'une forte pompe ; la croissance de la bactérie en milieu liquide se traduisait par l'apparition d'une petite zooglé. En 1935, la technique a été simplifiée en utilisant des boîtes de Petri en milieu gélosé, enfermées en série dans des « anaérobic jars » de Fildes et Mac Intosh, couramment employés pour les cultures anaérobies au laboratoire du P^r KLUYVER ; ce sont de gros récipients en verre épais, de 1 litre environ, ayant la forme d'un pot à conserves, qui peuvent se fermer hermétiquement et qui peuvent supporter le vide ; le couvercle est percé de 2 tubes fermés par des robinets ; l'air est chassé par un courant d'hydrogène, et l'oxygène résiduel brûlé grâce à une petite quantité d'amianté au palladium chauffée par une résistance où passe un courant électrique ; cette double opération est répétée deux fois pour assurer la parfaite privation d'oxygène. Chacun des récipients contient un tube témoin renfermant du bleu de méthylène décoloré par le glucose en milieu alcalin ; le bleu de méthylène est toujours resté réduit pendant toute la durée des expériences.

Sur les plaques de gélose colorées en violet par la thionine, la croissance de la colonie bactérienne apparaît sous forme d'une tache blanche se détachant sur le fond sombre des boîtes de Petri ; la tache s'agrandit progressivement, témoignant de la multiplication et de l'activité réductrice des bactéries ensemencées. L'ensemencement par stries sur milieu contenant 0,2 - 0,5, 1 ou 2,5 gr. par litre de thionine, donne en 1 à 4 jours deux magnifiques cultures blanches ; 0,5 et 1 gr. paraissent l'optimum de concentration en colorant ; les concentrations plus élevées semblent toxiques (elles le sont aussi en aérobiose). Les bactéries acétiques en voie de multiplication sont faciles à voir sur des préparations microscopiques ; les repiquages faits à partir de ces bactéries développées en anaérobiose, donnent des cultures aussi belles que les cultures aérobies originaires.

Que l'onensemence par stries ou par dilution, les témoins sans thionine ne donnent absolument aucune culture ; les plaques additionnées de thionine mais non ensemencées ne montrent pas la moindre trace de réduction ; enfin les plaques préparées avec du bouillon de levure ne donnent également aucune culture. Il y a donc action spécifique de la thionine et de l'autolysat ; la décolo-

ration ne peut être attribuée à un résidu d'activité des bactéries ou à des bactéries « non proliférantes ». La décoloration du milieu est bien un phénomène de réduction réversible du colorant ; en effet, quand les conserves sont ouvertes après 4 jours de culture, ce qui représente le temps pendant lequel les bactéries croissent, les stries décolorées se recolorent pratiquement entièrement à l'air ; il n'en est plus de même si l'on attend une dizaine de jours ; mais à ce moment la croissance des bactéries ne se poursuit déjà plus.

Laboratoire de Microbiologie de la Technische
Hoogeschool de Delft (Hollande) et
Institut Français d'Amsterdam.

INFLUENCE DU CYANURE DE POTASSIUM SUR LA RESPIRATION DE QUELQUES BACTÉRIES ACÉTIQUES

par Mlle Marguerite COZIC

Dans un travail antérieur (1), nous avons montré l'action remarquable exercée par le cyanure de potassium sur la consommation d'oxygène de *A. xylinum* (mesures effectuées par la méthode de WARBURG). Non seulement les concentrations N/1.000 et inférieures n'exercent aucune action nocive, mais les concentrations N/100 et N/10 augmentent considérablement (de 5 à 10 fois) la consommation d'oxygène de la bactérie. Nous n'avons pas conclu à une modification physiologique de la respiration mais à l'existence probable d'un phénomène chimique d'oxydation catalysée par KCN et dû à l'action de celui-ci sur la membrane ou sur les constituants de la membrane cellulosique de *A. xylinum*.

Il nous a paru, par suite, intéressant d'étudier l'action de KCN sur la respiration d'autres bactéries acétiques. Le cas de *A. pasteurianum* était déjà bien connu, en particulier par les travaux de O. WARBURG (2), nous avons expérimenté en outre avec *A. rancens*, *A. peroxydans*, *A. aceti*, *A. melanogenum*, *A. suboxydans*, *A. melanogenum variété rosa* (bactérie isolée d'un kombucha par M. SMIT au laboratoire du P^r KLUYVER). Ces espèces ont été particulièrement étudiées par les auteurs que nous citons dans notre travail : « Contribution à la connaissance des potentiels d'oxydo-réduction provoqués par le métabolisme des bactéries acétiques ».

(1) M. COZIC. Etude biochimique de *B. xylinum*. *Revue générale de Botanique*, 46, 1, 1934 et *Annales de la Brasserie et de la Distillerie*, 32, 136. 1934.

(2) O. WARBURG. *Biochem. Z.* 266, 1, 1933.

ACTION KCN

tampon acétate ph 5,5, température 30°, aliment alcool 1 %, quantités de bactéries de 0,5 à 1 mgr.

KCN	O	N/26.10 ⁵	N/26.10 ⁴	N/26.10 ³	N/26.10 ²	N/26.10 ¹
<i>A. rancens.</i>	100	100		70	55	0
<i>A. pasteurianum.</i>	100	65		46	35	0
<i>A. peroxydans.</i>	100	100		23		0
<i>A. suboxydans.</i>	100		87	55	0	0
<i>A. melanogenum.</i>	100		84	62	0	0
<i>A. aceli.</i>	100		87	79	0	0
<i>A. melanogenum</i> , variété <i>rosa</i> .	100		85	14	0	0

Le tableau ci-dessus montre que la respiration de toutes les bactéries acétiques étudiées est inhibée par $N/26.10^1$ KCN. *A. aceti*, *A. suboxydans* et les deux *melanogenum* ne respirent déjà plus en présence de $N/26.10^2$ KCN.

On voit que ces bactéries se comportent d'une manière à peu près analogue, tout à l'opposé de *A. xylinum*.

Les propriétés chimiques de celles-ci ne différant pas d'une façon profonde des autres bactéries acétiques, il nous semble possible de chercher la raison de cette différence essentielle dans la membrane de *B. xylinum*.

Laboratoire de Microbiologie de la Technische
Hoogeschool de Delft (Hollande) et
Institut Français d'Amsterdam.

RECHERCHES
PHYSIOLOGIQUES ET CYTOLOGIQUES
SUR
QUELQUES ESPÈCES DU GENRE *PYTHIUM*

par M. R. K. SAKSENA

(Suite)

D. — Effet du manque d'oxygène.

Dans un dessiccateur ordinaire, de contenance d'environ 2 litres, on place 22 gr. d'acide pyrogallique sec auxquels on ajoute 350 cc. d'une solution de soude à 1% (JORDAN, 1920). On place de petites boîtes de Petriensemencées (milieu à l'agar-farine de Maïs) à l'intérieur de ce dessiccateur et on lute à la vaseline et à la cire. On prépare, en même temps, des témoins, qui ne sont pas placés à l'intérieur du dessiccateur. L'examen a lieu 6 jours plus tard; on constate la formation d'organes reproducteurs chez les témoins et leur absence chez les autres. On retire alors quelques-uns de ceux-ci du dessiccateur et on les laisse pendant plusieurs jours à l'air libre; il se forme, durant ce temps, des organes sexuels sur le mycélium de nouvelle formation. On voit ainsi, très nettement, que pour les 4 Champignons, l'oxygène est un facteur indispensable pour la formation des organes reproducteurs.

Lorsqu'un mycélium aérien s'est développé il a toujours été plus abondant chez les témoins. En l'absence d'oxygène, le mycélium développé demeure mince et on rencontre, parfois, des gouttelettes d'eau adhérentes aux hyphes et ayant l'aspect de gouttes de rosée, dont elles présentent l'éclat.

E. — Effet de substances nutritives diverses.

Les 4 Champignons ont été cultivés sur milieux divers à 30° et on trouvera, résumés dans le tableau ci-dessous, les résultats quant à la production d'organes sexuels sur les différents milieux.

	MILIEUX							
	I	II	III	IV	V	XI	XII	LII
<i>P. deliense.</i>	+	+	+	+	+	+	+	—
<i>P. de Baryanum.</i>	+	+	+	+	+	+	+	—
<i>P. mamillatum.</i>	+	+	+	+	+	—	+	—
<i>P. indigoferae.</i>	1 ou 2	—	—	+	1 ou 2	—	+	—

On voit ainsi que, sur solution peptonée à 1%, aucun des Champignons étudiés n'a formé d'organes reproducteurs. Sur agar pur, farine de Maïs, sur Soja-agar et sur Carotte il y a eu, par contre, formation d'organes sexuels. SIDERIS rapporte qu'il lui a été possible d'obtenir des organes sexués de *P. indigoferae* sur agar aux graines de Melon d'eau ; personnellement nous n'avons pu obtenir de tels résultats, bien que les milieux aient été préparés en suivant toutes les indications de cet auteur. Il est vrai qu'il règne une certaine incertitude sur l'identité des graines utilisées par lui, qu'il désigne sous le nom de *Cuctumis citrullus*, alors que WILLIS (1925) leur donne le nom de *Citrullus vulgaris* Schrad. On a généralement admis et c'est là, entre autres, l'opinion de GWYNNE-VAUGHAN et BARNES (1927, page 40) que, d'une façon générale les milieux riches en substances nutritives sont favorables au développement végétatif des Champignons, mais non à la production d'organes sexués. Or, la farine de Maïs et celle d'Avoine (McGregor Robertson) sont riches en substances nutritives et favorables à la croissance et, cependant, sur ces milieux tous nos Champignons ont donné des organes sexués, tandis que sur agar à la farine d'Avoine *P. indigoferae* seul n'en a pas produit. D'autre part SIDERIS (1931) a pu montrer que les constituants azotés et lipidiques doivent exister à une concentration relativement élevée, par rapport aux glucides, pour qu'il y ait reproduction sexuelle normale chez

Nematosporangium. Et, cependant, nous avons vu tous nos Champignons produire des organes sexuels sur agar pur, qui est de faible valeur nutritive. Ceci montre combien il est difficile de généraliser, en ce qui concerne les exigences physiologiques de tels Champignons, pour la formation de leurs organes reproducteurs.

P. de Baryanum n'a pas donné d'organes sexuels sur le Pois, mais sur le Haricot on a pu en obtenir quelques-uns.

P. mamillatum n'a pas formé d'organes reproducteurs sur les plantules de Concombre, il en a, par contre, donné sur la Betterave (racines et plantules). On a pratiqué de la façon suivante : des plantules vivantes, lavées à l'eau distillée, ont été placées avec un peu d'eau distillée dans des verres de montre stérilisés et ensuite infectées par le Champignon. Après quelques jours, la plantule tout entière était envahie par le mycélium, qui avait même gagné l'eau. Des organes sexuels se sont formés tant sur le substratum que sur le mycélium aquatique.

P. indigoferae est épiphyte sur les feuilles d'*Indigofera erecta* Hochst et BUTLER, en 1907, l'a cultivé sur des rameaux bouillis de cette même plante, dans l'eau. Le Champignon n'a pas produit d'organes sexuels sur feuilles et rameaux, passés à l'eau bouillante et stérilisés, d'*Indigofera enneaphylla* et d'*Indigofera lignifolia*. Sur Gourde, sur racine d'*Abutilon indicum* et sur plantules de Cresson il s'est formé des organes sexuels, mais on n'a pu en obtenir sur Pomme de terre, plantules de Concombre, Pois et Haricot.

Le cas du *P. deliense* est un peu particulier. D'ordinaire les zoospores ou les sporanges ne se forment que sur les milieux indiqués plus loin (cf. page 52). Sur tous les milieux solides, sauf les milieux X, XVIII, XXXIV, XXXV, XXXVI, XXXIX, XL, XLI et XLIX, il y a formation d'organes sexuels. Sur Pomme de terre, graines de Ricin, Pois et Haricot les organes sexuels ne se forment pas pendant un assez long temps, par contre le développement végétatif est très riche. Ce n'est qu'après quelque temps que l'on voit apparaître un ou deux organes reproducteurs.

Sur milieu liquide les organes sexuels ne se forment d'ordinaire pas, sauf sur les milieux XLV, XLVI, LIV, LV et LIX.

Sur tissus animaux il y eut formation d'organes sexués, même

sur le mycélium aquatique développé sur les Fourmis et les Scolopendres.

(I) *Action de la peptone.* — Sur bacto-peptone on obtient les organes sexuels jusqu'à la concentration de 0.3% (avec addition de 2% d'agar), mais sur peptone (poudre sèche de viande) cette formation s'arrête déjà à la concentration de 0.25%. D'autre part, si l'on utilise des solutions maltosées à 0,5-1% on obtient des organes sexuels, mais ceux-ci ne se forment pas si l'on emploie la même solution additionnée de 0.1% de peptone.

(II) *Action des sucres.* — Les trois sucres étudiés sont : le saccharose, le maltose et le glucose. A chaque solution on ajoute, dans l'agar, 0.1% de peptone sèche.

Avec le saccharose on a des organes sexuels, les concentrations allant de 0.5 à 10%. Sur maltose on en a quelques-uns, jusqu'à la concentration de 7%, mais au delà ils diminuent en nombre, et à 10% il ne s'en forme plus. Avec le glucose on n'en rencontre pas, même lorsque la concentration est inférieure à 7%. On voit ainsi que, si des concentrations trop fortes en maltose retardent la formation des organes sexuels, le glucose est encore plus inhibiteur, tandis que le saccharose ne paraît pas avoir d'effet notable.

(III) *Action du malt d'Orge et du malt à l'huile de foie de Morue.* — Nous avons consigné les principaux résultats de cette étude dans le tableau suivant :

MILIEUX	ORGANES SEXUELS	TEMPS DE FORMATION
Agar pur à 2 %.....	présents	24-48 heures
Malt-agar à 0.5 %.....	quelques-uns	48-72 heures
Malt-agar à 1.0 %.....	très peu	48-72 heures
Malt-agar à 1.5 %.....	aucun après	96 heures
1.5 % malt-agar additionné de 0.5 % de malt à l'huile de foie de Morue.....	présents	72-96 heures
1.5 % malt-agar + malt à l'huile de foie de Morue à 2 %.....	présents	48-72 heures

On voit ainsi combien l'addition d'huile de foie de Morue est favorable au développement des organes sexuels. Par contre, un trop fort pourcentage d'Orge est une cause très nette de retard.

IV. *Effet de certains sels.* — Nous nous sommes proposé de rechercher quels sels étaient nécessaires à la formation des organes sexuels, mais toutes nos expériences ont échoué. En effet, ces organes se forment tantôt sur des milieux très pauvres en substances nutritives, tel celui à l'agar, tantôt sur des milieux particulièrement riches en ces substances, comme les milieux à l'agar-farine d'Avoine ou de Maïs. Et si nous avons pu constater que l'absence des sels d'ammonium ralentit le développement, de même la formation des organes sexuels est-elle beaucoup plus lente en l'absence de NH_4NO_3 ; ceux-ci n'apparaissent, en effet, qu'après 72 heures.

CHAPITRE III. — ACTION HYDROLYTIQUE

BUTKEWITSCH (1903) a montré qu'avec la peptone l'*Aspergillus niger* provoque la formation, par hydrolyse presque complète, d'une énorme quantité d'ammoniaque, qui n'alcalinise pas cependant le milieu, car elle est neutralisée par la formation d'une quantité équivalente d'acide oxalique. Mais le *Penicillium glaucum* et les Mucors, qui ne produisent pas d'acide oxalique, ne donnent pas non plus d'ammoniaque. Ces Champignons s'arrêtent au stade amino-acide et ne donnent que peu d'ammoniaque. La production de ce corps à partir de la peptone est l'œuvre d'une exodiastase.

WAKSMAN et JOFFE (1920), examinant les *Actinomyces*, ont montré que le milieu à base de peptone s'alcalinise généralement. Ces résultats ont été confirmés en 1923 par NAESSLUNG et DERNBY. La même année, KLOTZ a constaté une production considérable d'ammoniaque par l'*Aspergillus niger* consommant de la peptone en l'absence de sucre. Suivant que la production d'acides, comme l'acide oxalique, neutralise plus ou moins cette ammoniaque, la réaction se maintient plus ou moins près de la neutralité. Il n'a pas vu la réaction aller au delà de pH 6.5. Avec *Diplodia natalensis* le milieu peptoné s'alcalinise d'une façon régulière dès le début ; l'alcalinisation atteint pH 8.4. *Phoma betae* et *Sphaeropsis malorum* se comportent à peu près de même.

BACH (1925, p. 168), dans son étude sur *Aspergillus repens* de Bary, a montré que la peptone n'alcalinise qu'en l'absence de toute source de carbone. Dans ce cas, les amino-acides issus de cette hydrolyse ont leur chaîne carbonée utilisée en plus grande proportion que leur azote, qui s'accumule à l'état d'ammoniaque. Le pH d'une solution de peptone Difco à 5% passe de 6.2 à 8.2 à la fin du 6^e jour, pour diminuer ensuite, jusqu'à atteindre un plateau à pH

6.8, à la fin du 22^e jour. Cette acidification est due à la formation d'une grande quantité d'acide oxalique.

VOLKONSKY (1933) avec *Saprolegnia dioica* a constaté qu'en présence de peptone, comme seul aliment organique, le pH des cultures, quelle que soit sa valeur initiale, tend d'abord vers la neutralité, puis s'élève, dans les cultures âgées, jusqu'à des valeurs de pH égales à 7.6-7.8.

Pour évaluer l'activité hydrolytique des quatre Champignons on a prélevé, sur des cultures de 48 heures maintenues à la température de 30°C, des fragments, de taille aussi comparable que possible, qui ont été repiqués sur des solutions diverses, en flacons Pyrex de 200 cc., renfermant 100 cc. de la solution à étudier, préparée à la concentration de 1%.

A. — *Hydrolyse de la peptone.* — On a utilisé la peptone de Merck. Quant à la rapidité de la croissance, comme à la quantité de mycélium formé sur ce milieu, *P. deliense* vient en tête, puis *P. de Baryanum* et *P. mamillatum* et, enfin, *P. indigoferae*. Dans le cas des trois premiers, il se forme un mycélium gélatineux blanchâtre à la surface du liquide. Chez *P. indigoferae* le développement est lent et le mycélium demeure en dessous de la surface du liquide. Nous avons évalué le pH du milieu électrométriquement tous les 7 jours et obtenu les diverses valeurs suivantes, en partant d'un pH initial de 5.07.

APRÈS	<i>P. deliense</i>	<i>P. de Baryanum</i>	<i>P. mamillatum</i>	<i>P. indigoferae</i>
7 jours....	pH 6.70	5.51	5.20	5.08
14 jours....	8.06	7.40	7.03	5.19
21 jours....	8.30	7.92	7.88	6.01

L'activité hydrolytique du *P. deliense* est très marquée jusqu'à la fin de la première semaine ; elle commence à décliner et à devenir faible après la troisième semaine. Par contre, celle de *P. de Baryanum* et de *P. mamillatum* est peu marquée jusqu'à la fin de la première semaine, elle est plus forte durant la seconde et redevient faible pendant la troisième. *P. de Baryanum* est plus actif pendant la première semaine, mais il l'est moins durant la troisième que *P. mamil-*

latum. Dans le cas de *P. indigoferae*, il y a peu de modifications jusqu'après 15 jours, mais ensuite l'activité hydrolytique augmente, sans que jamais la valeur du pH descende au-dessous de 6, même à la fin de la troisième semaine.

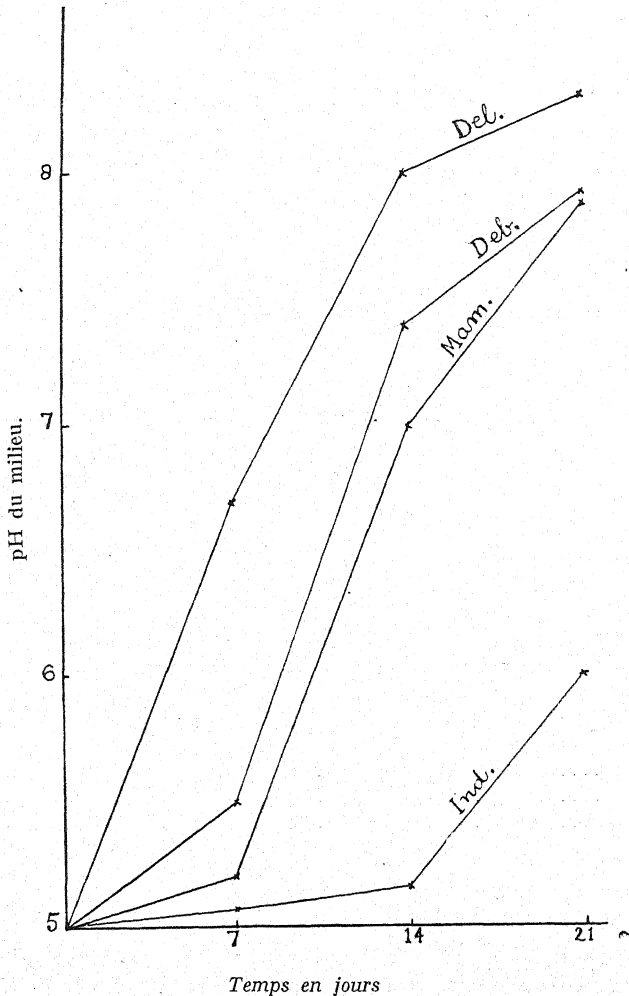


Fig. 5. — Courbe montrant les changements de la concentration en ions H de la peptone à 1% par suite du développement des Champignons, à 30° C. Deb. = *Pythium de Baryanum*; Del. = *P. deliense*; Mam. = *P. mamillatum*; Ind. = *P. indigoferae*.

La réaction qui s'effectue paraît être la même dans les trois cas ; elle ne varie que d'intensité et ceci dans l'ordre décroissant suivant : *P. deliense*, de *Baryanum*, *mamillatum* et *indigoferae*.

Les Champignons secrètent une enzyme protéolytique qui hydrolyse presque complètement la peptone avec production d'ammoniaque, avec un stade amino-acide intermédiaire. L'ammoniaque alcalinise le milieu. Après 21 jours un examen a montré que, avec tous les Champignons, sauf *P. indigoferae*, la peptone a subi une hydrolyse très poussée, ceci dans l'ordre ascendant suivant : *P. mamillatum*, de *Baryanum* et *deliense*. Un examen au tournesol a permis de constater que les solutions peptonées sur lesquelles étaient cultivés *P. deliense*, *P. de Baryanum* et *mamillatum* sont fortement alcalines, tandis que, avec *P. indigoferae*, la solution est légèrement acide. En aucun cas il ne s'est formé d'acide oxalique.

En ce qui concerne l'alcalinisation de la solution peptonée, *P. deliense*, de *Baryanum* et *mamillatum* sont comparables à *Saprolegnia dioica*, *Diplodia natalensis*, *Phoma betae* ou *Sphaeropsis malorum*. Dans ce cas, par suite de la production abondante d'ammoniaque à partir de la peptone, les milieux deviennent alcalins et leur pH dépasse de beaucoup le point de neutralité.

P. indigoferae, par contre, ressemble à *Penicillium glaucum* et aux Mucors qui ne donnent que peu d'ammoniaque.

B. — *Hydrolyse des glucides*. — Les Champignons ont été placés sur des solutions de saccharose à 1% ou d'amidon soluble à 1%, à 30°C, pendant 7 jours. Le repiquage a eu lieu à partir de cultures sur agar-farine de Maïs.

Avec les solutions de saccharose, il n'a pas été possible d'obtenir le développement de *P. de Baryanum*, *P. mamillatum* ou de *P. indigoferae*. *P. deliense* a donné quelques hyphes.

Sur amidon, tous les Champignons se sont parfaitement développés et la plus faible croissance a été réalisée par *P. indigoferae*. Dans tous les cas, les solutions ont réduit la liqueur de Fehling et les Champignons se classent dans l'ordre suivant, quant à l'intensité de cette réduction : *P. deliense*, *P. de Baryanum*, *P. mamillatum* et *P. indigoferae*. Les solutions ne réduisent pas l'acétate de cuivre en

solution acétique, ce qui indique la présence de dextrines ou d'amylose ou de maltose ou de toutes ces substances, mais non celle de glucose ou de fructose. C'est avec *P. indigoferae* que l'on a obtenu la plus faible hydrolyse. De ces expériences on peut conclure que les Champignons sécrètent une diastase, qui n'est certainement pas de l'invertase, et que l'intensité de la réaction est du même ordre que pour la peptone.

C. — *Extraction de l'enzyme.* — On a cultivé *P. deliense* dans de grands flacons renfermant une solution amylacée pendant 7 jours. Le mycélium, du poids de 6 gr. 2, a été lavé dans l'eau distillée et ensuite mis à macérer dans une solution à 10% de NaCl pur dans l'eau distillée à la température ordinaire (20°C) pendant 24 heures, puis en incubation à 27°, pendant les 24 heures suivantes. La solution a été filtrée et le filtrat soumis à la dialyse à la glacière (avec addition de quelques gouttes de toluène pour éviter la putréfaction) jusqu'à ce qu'il ne soit plus possible de déceler de NaCl dans la liqueur mère. Ceci a pris environ une semaine. Par traitement d'une petite portion de la liqueur mère à l'alcool absolu on a eu un léger trouble, ce qui prouve que le ferment n'est présent qu'à l'état de traces et qu'il serait inutile de tenter de l'isoler. Aussi a-t-on eu recours à la méthode suivante pour le mettre en évidence.

On ajoute 25 cc. de la liqueur mère à 50 cc. d'une solution d'amidon à 2% et le mélange est placé, après addition de quelques gouttes de toluène, à la température de 37° et abandonné durant 48 heures. Après ce temps, on traite la solution par la liqueur de Fehling et par une solution acétique d'acétate de cuivre. Toutes deux sont légèrement réduites, la première plus que la seconde, ce qui montre la présence de glucose et l'existence d'une diastase et, par déduction, d'invertase, dans le Champignon, au moins à l'état de traces.

D. — *Rapidité comparée de l'hydrolyse.* — Les Champignons ont été cette fois cultivés sur une solution d'amidon à l'agar (amidon soluble 2% et agar 2%) et aussi sur farine de Maïs (1.5%) additionnée d'amidon soluble (2%) et d'agar (2%), dans des boîtes de Petri de 14 cm.5 sur 2 cm.5. Chaque boîte a reçu 50 cc. de liquide.

Les expériences ont été effectuées en triple. Dans tous les cas, la croissance dura 48 heures. Après ce temps, on versa, sur le milieu, une solution iodée destinée à mettre en évidence l'amidon. Dans un des lots on laissa cette solution agir durant une minute et durant 10 minutes dans les autres. On rejeta ensuite cette solution iodée et on lava la surface du milieu à l'eau distillée.

Les zones où une hydrolyse complète s'était effectuée apparaissent en blanc sur les photographies (pl. XVI bis) et en noir celles où il ne s'est pas produit d'hydrolyse. A l'intérieur des boîtes, les premières semblent incolores, sauf là où le mycélium a pris une légère teinte brune par suite de l'action de l'iode. Ces zones claires, tout autour du point d'ensemencement, montrent la disparition de l'amidon et sa transformation en maltose et achrodextrine. A cette zone centrale fait suite, généralement, une bande teintée en pourpre qui indique la formation d'un produit d'hydrolyse intermédiaire, tel que l'érythro-dextrine (PELTIER, 1921), et qui ménage le passage à une zone d'un bleu clair, suivie elle-même d'une autre d'un bleu foncé. Nous avons à plusieurs reprises essayé de constater si l'hydrolyse s'effectuait au delà de la colonie, rappelant le phénomène constaté par PELTIER (1921) chez *Pseudomonas Citri*, mais toujours nous avons pu nous rendre compte que l'hydrolyse ne s'effectuait qu'en deçà des zones de croissance.

Il nous a paru que le Champignon tirait ses substances nutritives des régions situées en deçà des zones de croissance, ce qui expliquerait qu'il n'y a pas d'hydrolyse dans les parties en développement de la colonie. Pour vérifier le bien-fondé de cette opinion, nous avons institué deux séries d'expériences. Dans une première série, nous avons placé 25 cc. seulement d'agar-farine de Maïs par boîte de Petri (14 cm. sur 2.5), afin qu'il n'y ait qu'une mince couche de milieu nutritif, et dans une autre série nous avons mis 40 cc. de liquide par boîte, maintenue inclinée, de manière à ménager des épaisseurs variables. On a procédé ensuite à l'ensemencement avec des souches provenant des quatre sortes de Champignons. Pour chaque sorte, la moitié des boîtes a été traitée à l'iode après 24 et après 48 heures. Comme, dans la première série, la quantité de substance disponible était restreinte, on pouvait penser que dès que cette quantité aurait été utilisée par les hyphes du centre, il se

produirait une hydrolyse en avant de la colonie, afin de procurer des aliments aux parties en voie de croissance. On espérait obtenir, dans l'autre lot, des résultats comparables, là où le milieu n'avait été répandu que sur une mince épaisseur. Mais, dans tous les cas, il n'est pas apparu qu'il y ait hydrolyse dans les portions avancées des colonies.

Toutes ces expériences montrent que les zones d'hydrolyse sont de moins en moins étendues à mesure que l'on pénètre à l'intérieur du milieu, étant plus grandes par conséquent à la superficie que dans le fond (fig. 6).

Quand on fait agir la solution iodée pendant une minute environ, les Champignons ne sont pas lésés et continuent à se

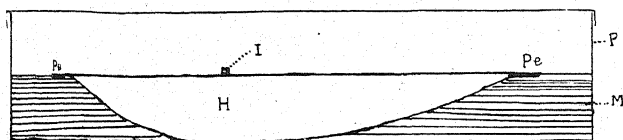


Fig. 6. — Section schématique d'une boîte de Petri montrant l'hydrolyse. Le milieu a été traité avec la solution iodo-iodurée après 48 heures de croissance du *Pythium deliense* à 30°C. I = fragment ensemençé; P=boîte de Petri; M=milieu nutritif; H=portion du milieu hydrolysée; Pe=périphérie de la colonie.

développer et la coloration légèrement bleue, prise par le milieu, disparaît après 12 heures, progressivement.

On peut voir sur la planche XVI bis les photographies des milieux où se sont développés les quatre Champignons. Elles indiquent les zones d'hydrolyse comparées, aux températures de 20°, 30° et 35°. On n'a pas reproduit ici, intentionnellement, celles obtenues à la température de 25°, car elles n'avaient rien de particulier.

On peut voir (fig. 1 du texte) que, à la température de 20°, la croissance de *P. indigoferae* est nettement moindre que celle de *P. deliense*; par contre on constate, en examinant la pl. XVI bis, que l'activité hydrolytique de ce dernier Champignon est beaucoup moins marquée que celle du premier. Chez *P. deliense*, la zone centrale n'est pas hydrolysée entièrement. A 20°, c'est *P. de Barryanum* qui manifeste la plus forte activité hydrolytique. Ceci est

vrai aussi, d'ailleurs, de sa croissance à la même température (fig. 1 du texte).

A 35°, seul *P. deliense* paraît se développer, et c'est ce qui explique l'absence des zones d'hydrolyse sur les photographies. *P. deliense* manifeste une activité hydrolytique très grande à 30 et 35° qui va de pair avec sa croissance. Il peut se développer encore à 40° et ici encore, bien que son activité hydrolytique soit moins marquée et sa croissance pareillement ralentie, il apparaît une zone blanchâtre tout autour du point d'ensemencement, montrant que l'amidon, dans cette partie, a été totalement hydrolysé.

A 45°, température pour laquelle nous n'avons pas apporté de photographies, les aspects sont les mêmes, en ce qui concerne *P. deliense*, qu'en ce qui a trait aux autres Champignons à 35°C.

CHAPITRE IV. — LES SPORANGES

Bien que *P. deliense* ait été cultivé sur des milieux très divers, on n'est pas parvenu à obtenir la formation de sporanges. Celle-ci cependant a été obtenue récemment (1934) par MEURS sur solution de Petri (1913). Personnellement nous n'avons jamais réussi à en avoir en grand nombre. La technique utilisée a été la suivante : le Champignon est mis à se développer sur agar-farine d'Avoine, jusqu'à ce qu'il y ait production d'un mycélium aérien suffisamment abondant, ce qui demande environ 3 à 4 jours à 18-22°, et de minimes portions de ce mycélium sont portées sur solution de Petri à 30°, dans de petites boîtes de Petri. Le développement s'opère d'abord presque exclusivement en surface. Après 8 heures, les organes sexuels commencent à se former et ils sont bientôt, après plusieurs jours, au nombre de quelques milliers, tant sur l'ancien que sur le nouveau mycélium, là où celui-ci est exposé à l'air. Après 2 ou 3 jours, le protoplasme s'accumule aux extrémités des hyphes qui, en conséquence, s'élargissent. Finalement, ces parties renflées sont séparées du reste de l'hyphe par une cloison ou, si leur position est intercalaire, par 2 cloisons transversales. Ces corps sont des sporanges filamenteux (pl. XI, fig. 1).

Pour obtenir des zoospores, le mycélium a d'abord été débarrassé des gouttes de solution adhérentes, puis placé dans des verres de montre contenant de l'eau de conduite fraîche. On a opéré également avec des cultures en gouttes pendantes. Les observations ont été poursuivies, à l'immersion, à la température de la pièce. Le sporange augmente de diamètre en raison de l'absorption d'eau qui s'accumule dans les vacuoles, qui s'élargissent, et finalement, après quelque temps, 45 minutes environ, les sporanges commencent à émettre un filament à l'intérieur duquel passe leur contenu. Lorsque le tube a atteint sa longueur définitive, qui est d'ailleurs variable,

une vésicule se développe à son extrémité. A ce moment tout le protoplasme émigre à l'intérieur de la vésicule, très rapidement, tandis que le sporange et le filament restent vides (pl. XI, fig. 2). La vésicule ne tarde pas à prendre une forme arrondie (pl. XI, fig. 3). Comme sa membrane est très mince (pl. XI, fig. 3, 4 et 5), il est facile de suivre toutes les modifications qui surviennent à son intérieur et qui sont telles que les a décrites EDSON chez *Pythium aphanidermatum*. Cette vésicule augmente de volume et il apparaît des vacuoles dans la masse cytoplasmique. Il se forme des lignes de clivage et de courts cils peuvent être distingués à la périphérie. La masse tout entière est alors agitée d'un mouvement de rotation et durant ce temps les spores acquièrent peu à peu leur forme définitive. (pl. XI, fig. 4). Au bout de quelques minutes, chacune d'elles est, d'ailleurs, nettement individualisée et manifeste un rapide mouvement de natation (pl. XI, fig. 5). La membrane de la vésicule se déchire finalement, cédant à la pression interne exercée sur elle par les zoospores réniformes (pl. XI, fig. 6) qui s'échappent dans toutes les directions. Pendant la période de clivage interne, la membrane de la vésicule semble fonctionner comme une membrane semi-perméable; l'organe, en effet, ne cesse de s'accroître. Le temps écoulé entre la formation de la vésicule et la libération des spores est d'environ 20 à 25 minutes.

Il ne nous paraît pas inutile de signaler certains phénomènes en rapport avec la formation des sporanges et des zoospores. Le mycélium prélevé sur Pomme de terre donne, lui aussi, des sporanges. Afin d'obtenir de meilleurs résultats le Champignon doit d'abord être cultivé à 15-25°; s'il est emprunté à un Champignon se développant à 28°-29° et que des fragments de mycélium aérien sont portés sur solution de Petri à 30°C, il ne se forme pas de sporanges. La formation des organes sexuels est même retardée. Lorsque un Champignon qui se développait à une température basse est cultivé à 30° sur solution de Petri, il semble qu'il reçoive un stimulus qui lui fait, d'abord, produire une grande quantité d'organes sexuels et, ensuite, après environ 3 jours, des sporanges.

Si les masses sont trop petites, on n'obtient pas de bons résultats. A côté de sporanges filamenteux terminaux et intercalaires, souvent porteurs de renflements latéraux, on a rencontré des corps terminaux lobés et ramifiés, de taille et d'aspect variables, puis un

assez grand nombre de corps filamenteux intercalaires, de tailles différentes, pourvus de protubérances (pl. XI, fig. 9 à 12). Dans ceux-ci le protoplasme est généralement distant de la membrane en maints endroits (pl. XI, fig. 9 et 10). Nous avons tenté d'obtenir leur germination, mais nous n'avons pu avoir de zoospores à partir d'eux. Parmi les corps lobés, beaucoup germèrent, mais jamais nous n'avons rencontré de vésicules ou de zoospores. Cette germination était normale au début, puis elle se ralentit bientôt, pour cesser

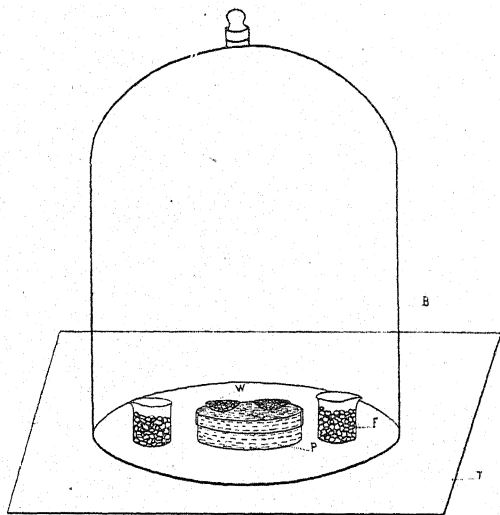


Fig. 7. — B, cloche ; F, récipient avec glace ; P, boîte de Petri avec eau froide ; T, un coin de table ; W, verre de montre avec eau froide et mycélium sporangifère.

ensuite (pl. XI, fig. 14). L'aspect d'un grand nombre de ces formations lobées rappelle celui des sporanges de *P. aphanidermatum* et leur germination, du reste, est identique à celle des sporanges de cette même espèce et de *P. deliense*. Nous inclinons à penser que les deux sortes de corps dont nous venons de parler sont de même nature que les sporanges. Ils peuvent donner, dans des conditions favorables, des zoospores. A cet égard, le Champignon est particulièrement sensible à la température. C'est ainsi que si le mycélium, après avoir été cultivé à 30°, est porté dans l'eau fraîche, dont la température est d'environ 20 à 25°, ou si, dans la chambre, il règne une

température comparable, nombreux sont les sporanges dont la germination ne s'effectue qu'à demi ou même qui ne germent pas du tout. Lorsque la température de la pièce était aux environs de 25 à 27°, nous avons abaissé celle-ci pour les cultures, artificiellement, en plaçant le matériel dans des verres de montre à l'intérieur d'une cloche suivant le dispositif représenté dans la figure 7.

La température de l'eau avait été abaissée par l'addition d'un fragment de glace, mais il convient de noter qu'une température trop basse serait incompatible avec la germination des sporanges.

Dans un cas seulement, nous avons vu des zoospores se déplaçant sur une boîte de Petri portant le Champignon et remplie d'une solution de Petri et qui avait été placée pendant 5 jours à la température de 30°, puis ramenée à la température de la chambre (18-22°) où elle avait séjourné pendant environ 2 heures.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE CYTOLOGIQUE DES *PYTHIUM*

CHAPITRE I. — HISTORIQUE

Avant d'exposer les résultats de notre étude cytologique des *Pythium*, nous voudrions donner un bref aperçu de ceux acquis jusqu'ici sur ce genre.

Le premier travail sur les noyaux des *Pythium* est dû à FISCH (1885). Avant lui certains auteurs avaient fait quelques observations vitales. PRINGSHEIM avait admis, en effet, l'existence d'anthérozoïdes, mais ses idées n'avaient pas été acceptées ni par ROZE ni par CORNU, appuyés par DE BARY et par WORONIN. Ce dernier démontra qu'une partie seulement du contenu de l'anthéridie pénètre dans l'oogone. Ces mêmes auteurs reconnurent l'existence indépendante, dans l'oogone, d'une oosphère et d'une petite portion de périplasme. C'est, en effet, DE BARY (1881 et 1887) qui a montré que l'espace, situé entre l'oosphère et la paroi de l'oogone, est rempli par du protoplasme granuleux et d'aspect hyalin, ou périplasme, qu'il est parfois malaisé de distinguer. Il pensait que chez *Pythium*, comme chez *Phytophthora*, le périplasme ne participe pas à la formation de l'oospore, qu'il entoure simplement.

WARD, chez certains *Pythium*, en 1883, a admis l'existence d'un cytoplasma fortement granuleux, qu'il figure et décrit et qu'il voit disparaître en 2 heures environ après la fécondation. D'après lui, le contenu de l'anthéridie, sauf une très petite quantité de protoplasma

granuleux, passe dans l'œuf en 4 heures environ. Pour FISCH (1885), il existe, dans le jeune oogone, 10 à 20 noyaux qui fusionnent pour en donner un unique. Dans l'anthéridie, il rencontre toujours un seul noyau, mais il incline à penser que ce noyau est le résultat d'une fusion d'un certain nombre d'autres. Ce noyau émigre dans l'oosphère avec le gonoplasme et disparaît avec le noyau de l'œuf. Il décrit un processus de fusion nucléaire collective dans l'oogone.

DANGEARD (1894) dans ses « Recherches sur la reproduction sexuelle des Champignons » dit : le *Pythium proliferum* possède également de nombreux noyaux soit dans les oogones, soit dans les anthéridies. En 1901, TROW publie un important travail sur la cytologie de *Pythium ultimum* et la même année MIYAKE donne son mémoire sur la « Fécondation chez *Pythium de Baryanum* ». Ces deux derniers auteurs montrent qu'il n'y a pas de fusion nucléaire collective dans l'oogone. Il s'opère une division nucléaire dans chaque organe sexuel et un seul noyau mâle va féconder un unique noyau femelle. Plus tard, en 1915, EDSON étudiant *Rhaeosporangium aphanidermatum*, maintenant connu comme un *Pythium* : *P. aphanidermatum*, n'a pu trouver de mitose à l'intérieur des organes sexuels. D'après lui les noyaux, chez ce dernier, se formeraient dans les hyphes parents et émigreraient dans les organes sexuels, exactement comme en période non sexuelle. Un noyau mâle féconde un noyau femelle. Sans doute la mitose réductrice s'opère-t-elle lors de la première division du noyau de fécondation, mais il n'a pu en apporter la preuve, qui ne saurait résider que dans une numération des chromosomes.

Enfin, PATTERSON en 1927 a entrepris l'étude du *Pythium torulosum*. Il a rencontré une division nucléaire dans chaque organe sexué et la fécondation d'un noyau femelle par un noyau mâle. D'après TROW, MIYAKE et PATTERSON, les noyaux se disposent plus ou moins en un cercle proche de la périphérie avant que de se diviser. Suivant EDSON, cette disposition se retrouverait aussi dans l'oogone, mais sans qu'il y ait division des noyaux.

Récemment DANGEARD (1931) a rencontré, chez *P. muscae*, un noyau avec un seul nucléole de grande taille, des granulations lipidiques et des chondriosomes sphériques qu'il désigne, à tort, sous le nom de cytosomes.

GUILLIERMOND et OBATON (1934), étudiant l'action du pH du milieu dans la coloration vitale des cellules végétales, ont constaté que lorsque *P. de Baryanum* est cultivé sur une solution peptonée, additionnée de rouge neutre, la coloration commence à pH 6,0 pour devenir intense à pH 7,20 et cesser complètement à pH 8. A la suite de leurs observations sur ce Champignon, comme sur d'autres végétaux, ces auteurs pensent que, vraisemblablement, la coloration vitale n'est réalisable qu'à un pH plus ou moins voisin de la neutralité.

CHAPITRE II. — MYCÉLIUM.

OBSERVATIONS PERSONNELLES

A. — Observations sur matériel vivant.

1° *Observations générales.* — L'étude *in vivo* des quatre Champignons (*P. deliense*, *P. de Baryanum*, *P. mamillatum* et *P. indigoferae*) est rendue difficile du fait du peu d'épaisseur des filaments. Mais, de tous, c'est *P. indigoferae* qui possède le mycélium le plus grêle. A un fort grossissement et sans coloration, on peut reconnaître les grandes vacuoles avec, parfois, des corpuscules intravacuolaires en mouvement, des globules lipidiques brillants qui se déplacent et, enfin, le cytoplasma d'aspect dense (Pl. XII, fig. 1-3 et Pl. XIII, fig. 13, 14 et 20). Les noyaux ne sont pas visibles.

Lorsque l'on observe des filaments mycéliens d'une culture sur solution peptonée à 1%, à un fort grossissement, on aperçoit d'abord, dans le cytoplasme, un certain nombre de petits globules très réfringents, entraînés rapidement par les courants cytoplasmiques. Leur nombre, comme leur taille, est fort variable d'un filament à un autre et même d'une extrémité à l'autre d'un filament, et en rapport aussi avec l'âge de ce dernier. Aux extrémités des filaments ils sont, d'ordinaire, assez petits et peu nombreux. Dans les filaments âgés ils sont, le plus fréquemment, de grande taille; souvent accolés par deux, trois, quatre ou davantage (Pl. XII, fig. 1 à 3). Lorsque l'on traite le mycélium par l'acide osmique à 1%, les globules brunissent; ils sont teintés en rouge par le Soudan III et le Schärlach R; ils sont solubles dans le chloroforme, la benzine, l'éther et l'alcool méthylique. Ils ne sont pas colorés par le rouge neutre ou les autres colorants vitaux du système vacuolaire, ni par ceux du chondriome, tel le vert Janus. On peut donc les considérer comme des granulations lipidiques, produits du métabolisme.

Chez *P. indigoferae*, ils sont en moins grand nombre que chez les autres *Pythium* étudiés ; et nous avons pu constater, au cours de nos recherches, que leur nombre et leur taille augmentent lorsque le mycélium est cultivé sur des milieux riches en glucides, tels la Pomme de terre, l'agar-farine d'Avoine ou l'agar-farine de Maïs, etc. Bref, ces formations ressemblent aux granulations lipidiques rencontrées déjà, chez d'autres Champignons, comme le *Saprolegnia*, par exemple (GUILLIERMOND, 1920).

2° *Le système vacuolaire.* — En raison du peu de différence de réfringence existant entre le suc vacuolaire et le cytoplasma, l'étude du système vacuolaire sur le vivant, sans aucune coloration, demande quelque habitude. De toute façon on ne peut apercevoir sans coloration les très petites vacuoles situées aux extrémités des filaments. Souvent on les voit rangées en chaînette, à la suite les unes des autres (pl. XII, fig. 1, 2 et pl. XIII, fig. 13), petites et grandes mélangées. Toutes sont entraînées, avec les globules lipidiques, par les mouvements cytoplasmiques.

Coloration vitale. — Afin de mieux distinguer le système vacuolaire nous avons utilisé un colorant presque spécifique des vacuoles : le rouge neutre et accessoirement nous nous sommes également servi des bleus de crésyl, de toluidine et de méthylène.

Aux extrémités des filaments ainsi traités par le rouge neutre on aperçoit, parfois, de petites vacuoles (pl. XII, fig. 3 et 13, pl. XIII, fig. 20) qui fusionnent et en forment de grandes ; mais, le plus souvent, le système vacuolaire apparaît sous la forme de larges canalicules qui s'anastomosent et donnent un réseau avec des renflements aux points de jonction (pl. XII, fig. 4). Dans les parties âgées du filament, les canalicules, lors de leur fusion, réalisent un grand canal vacuolaire, qui occupe la plus grande partie du filament. Le cytoplasme est alors réduit à une couche pariétale (pl. XII, fig. 5 et 12 ; pl. XIII, fig. 14 et 21) qui s'amincit de plus en plus, à mesure que le canal vacuolaire augmente. A l'intérieur de ce système, se trouve une substance, à l'état de solution très concentrée, qui adsorbe le colorant. Mais à mesure que les vacuoles grossissent, cette substance, devenant de plus en plus étendue, se colore d'une manière de plus en plus pâle. Lorsque le canal vacuolaire est définitivement constitué, le suc vacuolaire ne se colore

plus que d'une manière très faible. Le système vacuolaire offre donc, chez ces Champignons, les mêmes formes que celles observées par GUILLIERMOND dans le *Saprolegnia* et le *Rhizopus nigricans*. Il est facile de constater que les formes canaliculaires initiales du système vacuolaire sont tout à fait différentes et indépendantes du chondriome. Ceci apparaît surtout nettement quand on plonge les filaments, préalablement colorés par le rouge neutre, dans une solution diluée de vert Janus. Les chondriosomes se teintent alors à leur tour et l'on a, côte à côte, différemment colorés, chondriome et système vacuolaire (pl. XII, fig. 13 et 14).

Lorsque l'on traite les filaments par une solution très diluée de rouge neutre, les vacuoles prennent une teinte rouge pâle après quelques secondes. Au bout de plusieurs minutes, on voit à leur intérieur un assez grand nombre de petits corpuscules plus intensément colorés que le suc dans lequel ils baignent, et qui sont agités de mouvements browniens. Ces corpuscules s'entrechoquent, s'accroissent et finissent par fusionner, donnant ainsi des corps de plus en plus gros, jusqu'à ce qu'il n'y en ait plus généralement qu'un seul par vacuole. A mesure que ce processus se poursuit, leur aspect se modifie; on en rencontre d'immobiles, situés sur le bord de la vacuole (pl. XII, fig. 7 et pl. XIII, fig. 20), ayant parfois l'aspect de croissants (Pl. XII, fig. 7). Après quelque temps, la coloration du suc vacuolaire s'estompe progressivement, celle des corpuscules perd aussi de son intensité et, finalement, il n'est plus possible de distinguer aucune coloration à l'intérieur du filament.

Au sujet de cette décoloration, on ne peut admettre que le rouge neutre soit réduit, car on sait que son potentiel d'oxydo-réduction est plus bas que celui du cytoplasma et que, par conséquent, il ne peut être transformé en leucodérivé dans les cellules vivantes. Il est difficile de supposer que le colorant puisse être rejeté, étant donné qu'il est énergiquement adsorbé par les colloïdes vacuolaires. La seule explication serait donc d'admettre que le colorant est détruit et assimilé par la cellule vivante. Cette hypothèse a déjà été exprimée par GUILLIERMOND (1930 a), GAVAUDAN (1933) et GAUTHERET (1935).

Si l'on traite le Champignon par une solution de rouge neutre plus concentrée que la précédente, les précipités décrits ci-dessus apparaissent immédiatement et ils sont alors fortement colorés, tan-

dis que le suc vacuolaire demeure incolore. I's manifestent les mêmes mouvements et fusionnent de la même manière pour donner, en fin de compte, un corps volumineux qui s'accole à la paroi de la vacuole (pl. XII, fig. 8). On constate, parfois, que dès que les corpuscules entrent en contact avec les bords de la vacuole, le colorant diffuse et les bords de la vacuole se teintent plus ou moins intensément (pl. XII, fig. 9), puis le colorant diffuse à nouveau à l'intérieur de la vacuole (pl. XII, fig. 10), qui se colore ensuite entièrement d'une façon homogène, peu intensément, pour finir par se décolorer totalement. Il arrive, mais très rarement, que, entraînées contre la paroi de la vacuole, ces granulations franchissent celle-ci et viennent se déposer dans le cytoplasma périvacuolaire (pl. XII, fig. 11) (GUILLIERMOND, MANGENOT et PLANTEFOL, 1933, p. 290-291).

Des résultats assez analogues ont été obtenus par GUILLIERMOND (1934 a) dans son étude de la coloration vitale du *Saccharomyces Ludwiggii*, *Saccharomyces ellipsoideus*, *Penicillium glaucum*, *Zygosaccharomyces Chevalieri*, etc.

Ce même type de coloration, qui a été constaté dans les cellules animales, a été étudié et expliqué par von MÖLLENDORF (GUILLIERMOND, MANGENOT et PLANTEFOL, 1933). L'explication de ce savant peut fort bien être appliquée au cas présent et l'on peut ainsi penser que, la vacuole étant ordinairement acide et le rouge neutre un colorant basique, lorsque celui-ci pénètre dans la cellule il détermine la précipitation des colloïdes vacuolaires. Si le colorant est en excès par rapport à ceux-ci, il leur communique sa charge et provoque la dissolution des précipités, ainsi que la coloration globale de la vacuole.

Une solution concentrée de rouge neutre est toxique pour les Champignons, qui meurent assez vite, les filaments prenant alors une coloration rouge foncée et montrent leur vacuole décolorée, ce qui permet de distinguer aisément ceux qui sont encore vivants, leurs vacuoles étant seules colorées.

Avec les bleus de toluidine, de crésyl et de méthylène, le contenu vacuolaire prend une coloration rouge violacée, comme l'a décrit GUILLIERMOND antérieurement.

Cultures en milieux additionnés de rouge neutre et coloration des vacuoles pendant la croissance du Champignon. — Si l'on cultive les Champignons sur milieu peptoné à 1%, auquel on ajoute

1 mgr. % de rouge neutre, on constate qu'il n'y a pas de coloration des vacuoles. On peut alors augmenter le pourcentage du colorant et l'on voit qu'à la dose de 4-5 mgr. % on réussit à obtenir une bonne coloration des vacuoles pendant la croissance des Champignons, bien qu'un certain nombre de filaments meurent. Ce nombre augmente naturellement avec le pourcentage de colorant additionné. Cependant, pour *P. indigoferae*, 5 mgr.% de rouge neutre n'ont pas suffi pour obtenir une coloration des vacuoles et les meilleurs résultats, dans ce cas, furent obtenus avec 7 mgr.% de colorant.

On retrouve, dans les filaments colorés pendant leur croissance, les canicules, le réseau et, d'une façon générale, tous les aspects du système vacuolaire décrits plus haut et ceci très nettement. Les corpuscules apparaissent sous des formes variées (pl. XII, fig. 12 et pl. XIII, fig. 14). Dans les parties plus âgées, le suc vacuolaire est coloré (pl. XII, fig. 16), cependant que les corpuscules sont toujours très nets, bien qu'un certain nombre d'entre eux soient moins teintés. De place en place, on rencontre des corpuscules aux mouvements lents et ayant la forme de plaquettes de taille et d'aspect variables (pl. XII, fig. 15 et pl. XIII, fig. 14 et 21). En se fusionnant ils donnent des corps particuliers, les uns ressemblant à des X, les autres à des croissants, etc. Certains paraissent même être creusés en leur centre (pl. XIII, fig. 14).

On obtient des résultats analogues si l'on ajoute le rouge neutre à des milieux solides comme l'agar-farine de Maïs ou le Soja-agar. Il faut, cette fois encore, atteindre le pourcentage de 7 mgr. pour obtenir de bons résultats avec *P. indigoferae*. Les organes sexuels sont également apparus sur milieux solides (farine de Maïs additionnée de rouge neutre) et leur système vacuolaire s'est coloré pendant le développement.

Mentionnons ici que le sporange de *P. deliense* possède plusieurs vacuoles (pl. XI, fig. 7 et 8).

3° *Le chondriome*. — Nous avons déjà indiqué que l'étude *in vivo* du chondriome demandait quelque habitude. Lorsqu'on les traite par une solution de vert Janus, les préparations prennent une légère teinte rose après quelques minutes, car ces Champignons ont le pouvoir de réduire le colorant. Ce fait a été observé pour la

première fois par moi sur l'une de ces espèces de *Pythium* en 1932; mais les chondriosomes finissent par se colorer. On peut utiliser, en dehors du vert Janus, le violet de dahlia, que l'on prépare comme les solutions de rouge neutre.

Sans coloration vitale, il est facile de distinguer les chondriosomes des globules lipidiques; ces derniers sont beaucoup plus réfrigents que les premiers et sont beaucoup plus rapidement entraînés que ceux-là dans les courants cytoplasmiques. En outre, les chondriosomes se colorent par le vert Janus; ils apparaissent sous forme de mitochondries granuleuses mélangées de chondriocontes (pl. XII, fig. 2, 13 et 14), mais, chez *P. de Baryanum*, on rencontre des chondriosomes ayant l'aspect de fuseaux.

La coloration des chondriosomes par le vert Janus s'opère après environ 10 à 15 minutes, alors que celle des vacuoles par le rouge neutre est presque instantanée. Parfois les éléments du chondriome se gonflent et se vésiculisent (pl. XII, fig. 17). Nous avons indiqué plus haut le résultat de la double coloration simultanée pour le rouge neutre et le vert Janus (voir page 61). Avec le violet de dahlia, on peut, fort rarement, arriver à mettre en évidence les noyaux (*Ibid.*); mais, d'une façon générale, ceux-ci ne sont pas visibles sur le vivant.

Réduction du vert Janus. — Pour étudier le pouvoir réducteur des quatre espèces de *Pythium* vis à vis du vert Janus, nous les avons cultivées, à 20°C, sur peptone à 1%, durant quatre jours; on les lave doucement ensuite, pendant quelques secondes, afin de les débarrasser des gouttelettes de la solution de peptone, puis on les plonge dans une solution de vert Janus durant 15 minutes, après quoi on monte dans une solution de Ringer. Au bout de 10 minutes environ, la coloration rouge saumon apparaît, surtout marquée chez *P. deliense* et *P. indigoferae*, moins intense et moins rapide chez les deux autres espèces.

B. — Observations sur matériel fixé.

1° *Le système vacuolaire.* — Il est aisé d'obtenir l'image négative du système vacuolaire après traitement des Champignons par les liquides de Flemming, de Regaud, de Tupa-Regaud et de Helly; dans ces deux derniers cas même sans postchromisation.

Les meilleurs résultats nous ont, d'ailleurs, été fournis par le liquide de Helly. Le système vacuolaire apparaît alors, dans les extrémités des filaments, sous forme de petites vacuoles ou de canalicules et, parfois, de grosses vacuoles, toujours incolores (pl. XIII, fig. 3, 8, 12 et 17).

Nature des précipités vacuolaires. — Aux corpuscules qui apparaissent sous l'action des colorants vitaux, on a donné le nom de : précipités intravacuolaires, du fait de leur présence à l'intérieur d'une vacuole. GUILLIERMOND (1903, 1920 a) a montré qu'ils sont, ordinairement, constitués par de la métachromatine ou volutine, chez les Champignons. On peut, pour les étudier ici, de ce point de vue, fixer le mycélium par le formol ou l'alcool absolu, pendant 1-2 heures, colorer ensuite par une solution aqueuse à 1% de bleu de méthylène, de bleu de crésyle ou de bleu de toluidine, durant 1 minute ; laver à l'eau et enfin monter dans la glycérine. On ne rencontre pas alors de corpuscules colorés en rouge dans la vacuole, ce qui indique que dans les Champignons du genre *Pythium*, ils ne sont pas formés de métachromatine. De plus, lorsqu'on traite une préparation, fixée à l'alcool absolu (ou au formol) et colorée par le bleu de méthylène, par une solution aqueuse d'acide sulfurique à 1% (réaction I de Arthur MEYER), on constate que tous les précipités se décolorent. On sait que les corpuscules métachromatiques demeurent colorés en rouge dans les mêmes conditions, tandis que tout le reste du protoplasme se décolore. Aussi peut-on conclure que ces Champignons ne paraissent pas posséder de métachromatine. Les mêmes résultats ont, d'ailleurs, été obtenus par GUILLIERMOND chez *Saprolegnia* (*La Cellule*, 1920 b). En dépit de la différence de leur contenu, on peut fort bien comparer, quant à la forme des précipités intravacuolaires, la figure 11 de notre planche XII, par exemple, avec celle de *Penicillium glaucum* (GUILLIERMOND, *Le vacuome*, 1934, fig. 4 A²) et nos figures 7, 8 et 9 (pl. XII) avec la figure 3, *Saccharomyces Ludwigii*, du même auteur (*loc. cit.*).

2° *Le chondriome.* — Toutes les techniques habituellement utilisées pour la mise en évidence du chondriome nous ont réussi. Le plus souvent il n'est pas nécessaire d'avoir recours à des inclusions dans la paraffine. Il est même préférable de fixer et de colorer en

masse le mycélium, car on a ainsi une meilleure vue d'ensemble de son contenu. Le seul avantage des coupes à la paraffine c'est qu'elles permettent une différenciation meilleure. D'une façon générale les résultats les plus nets ont été obtenus après fixation par le liquide de Helly ou le sublimé-formol. La méthode de Regaud s'est montrée peu favorable, ce qui s'accorde avec ce que l'on a déjà constaté pour les Saprolegniacées (GUILLIERMOND). La coloration a été faite à l'hématoxyline ou au violet de gentiane en solution aqueuse. Ces colorants ne se fixent pas sur le système vacuolaire, mais permettent de voir, en même temps que le chondriome, les noyaux. Au sujet de ces derniers, on peut noter que, fort souvent, le liquide de Helly nous a donné des résultats supérieurs même à ceux obtenus avec le mélange de Flemming.

Nous savons, d'après les observations vitales rappelées plus haut, que le chondriome est représenté ici par des chondriocontes et des mitochondries granuleuses (pl. XIII, fig. 1-8, 11, 12, 16-19). Les chondriocontes varient légèrement de forme, de nombre et de longueur, sans jamais atteindre toutefois une dimension importante. Tantôt, on en rencontre en quantité en un endroit, cependant que plus loin il y en a fort peu et, en un autre point, pas du tout. Chez *P. indigoferae*, il semble que les mitochondries sont moins abondantes et que les chondriocontes sont un peu plus allongés et plus minces que chez les autres *Pythium* étudiés; chez *P. de Baryanum*, les chondriosomes ont parfois l'aspect de fuseaux (pl. XIII, fig. 11), aspect que l'on ne retrouve généralement pas chez les autres espèces, sauf chez les Saprolegniacées.

Nous avons naturellement rencontré des formes d'altération du chondriome. Il s'agit en l'espèce de la cavulation des chondriosomes (pl. XIII, fig. 1, 2, 16 et 19), c'est-à-dire de leur gonflement et transformation en grosses vésicules. L'intensité du phénomène est très variable.

Nous avons constaté la fragmentation des chondriocontes qui, pour ce faire, s'allongent et prennent la forme d'haltères dont les 2 parties finissent par se séparer (pl. XIII, fig. 2, 5 et 11). A la fin de ce processus, chaque nouveau bâtonnet porte un léger renflement à l'une de ses extrémités (pl. XIII, fig. 1, 2 et 8).

Nous devons attirer l'attention, à propos des *Pythium*, sur un fait assez particulier déjà observé par GUILLIERMOND dans les Sa-

prolégniacées, relatif à la fixation du chondriome et qui montre combien la constitution chimique des chondriosomes est susceptible de varier dans une certaine mesure d'une espèce à l'autre. Dans les *Pythium*, en effet, les liquides fixateurs (Bouin, Flemming fort et Lenhossek), renfermant de l'alcool, de l'acide acétique et du formol conservent le chondriome qui, on le sait, est habituellement détruit par ces mêmes substances (sauf chez *Saprolegnia*, GUILLIERMOND 1920 b). La plupart des mélanges employés pour fixer les noyaux conservent donc le chondriome.

C'est ainsi que le sublimé formol contenant 3% d'acide acétique ou un mélange d'acide picrique, d'alcool, d'acide acétique et de sublimé (1) conservent également le chondriome.

Il me semble que, pour ces Champignons, un fixateur renfermant du sublimé est le plus indiqué pour la conservation du chondriome.

Le chondriome est de même conservé par un mélange d'acide osmique à 1% et d'iodure de potassium, mais l'acide osmique n'est pas réduit. Avec le liquide de Lugol, il prend une teinte jaune, plus marquée que pour le cytoplasme. Mais ces procédés ne remplacent pas les colorations usuelles, à l'hématoxyline, par exemple.

Nous avons, de plus, cherché à reconnaître l'action de la température sur le chondriome. Le mycélium de *P. deliense* a été cultivé à la température de 45-50° sur une solution à 1 % de peptone. Il a été coloré ensuite vitalement par le vert Janus, fixé par le sublimé formol, puis coloré à l'hématoxyline. La réfringence des éléments du chondriome est alors moindre, comme aussi leur élection pour le colorant vital. Dans les préparations fixées et colorées on en rencontre quelques-uns qui sont demeurés normaux, mais beaucoup de ces éléments ont subi des altérations, ils sont cavulés (pl. XIII, fig. 7). Chez d'autres l'altération est seulement partielle. Ainsi donc les éléments du chondriome sont cavulés, mais ne sont pas détruits par une élévation de la température et nos recherches confirment à ce point de vue les résultats de FAMIN (1935) et s'opposent à ceux de POLICARD et MANGENOT (1922).

(1) Bichlorure de mercure 4 gr. et acide acétique 5 cc. dans 100 cc. d'une solution saturée d'acide picrique dans l'alcool à 70. Fixation de 8 à 24 heures.

Nous noterons que le chondriome des sporanges de *P. deliense* offre le même aspect que celui du mycélium (pl. XI, fig. 8).

3° *Examens microchimiques.* — Les réactions que nous avons faites sur le mycélium en vue de décélérer la cellulose, la callose, le glycogène (substance de réserve que l'on rencontre dans les organes sexuels) ou les cristaux protéiques n'ont donné aucun résultat. Par contre celles des lipides se sont montrées positives au niveau des globules réfringents décrits ci-dessus (granulations lipidiques).

La membrane semble constituée par de la chitine à en juger par la réaction obtenue en faisant agir une solution d'iode dans l'acide sulfurique et qui nous a donné une coloration jaune. Aucune réaction positive n'a toutefois été obtenue avec le rouge de rathénium, le bleu coton ou le réactif de Millon.

4° *Les noyaux.* — Le noyau au repos.

Nous avons coloré en masse les noyaux des *Pythium* et pour *P. deliense* nous avons, de plus, fait des coupes à la paraffine. Les méthodes que nous avons employées sont très diverses. Nous avons eu de bons résultats avec les liquides de Bouin, de Meves et de Helly. Les meilleurs ont été obtenus avec le mélange faible de Flemming. Nous avons essayé une vingtaine de formules différentes avant de trouver la concentration optimale, qui paraît varier avec chaque objet. Quant aux colorations, celle recommandée par SMITH (1923) ou celle de Gram modifiée par COUCH (1932) ne nous ont pas donné de bons résultats. C'est encore l'hématoxyline de Heidenhain, suivie de la coloration à l'érythrosine en solution aqueuse à 1%, qui s'est montrée la plus favorable.

Les noyaux se rencontrent partout dans le mycélium, ils sont répartis sans aucun ordre. Leur taille est réduite, mais elle paraît l'être surtout vers les extrémités des filaments. En dehors de leur taille, les noyaux des 4 espèces de *Pythium* se ressemblent absolument. *P. mamillatum* possède les plus grands et *P. indigoferae* les plus petits. Leur forme est généralement sphérique et parfois ovoïde (pl. XIII, fig. 1-6, 8, 12, 16, 18 et 19). Entraînés et comprimés par les courants cytoplasmiques, ils peuvent apparaître fusiformes comme dans les Saprolegniacées (pl. III, fig. XI, 16 et 18) et allongés dans le sens du courant. Ils sont entourés par une fine membrane

(pl. XIII, fig. 9) et l'on aperçoit, en leur centre, un nucléole qui occupe presque la moitié du volume nucléaire et qui, outre sa taille relativement considérable, se distingue par son affinité pour les colorants. Ce nucléole baigne dans le nucléoplasme dans lequel on aperçoit, de plus, un fin réseau qui le relie à la périphérie. On distingue également, sur de bonnes préparations, de petits granules de chromatine tant sur les mailles du réticulum que contre la membrane nucléaire, plus visibles ici que là.

CHAPITRE III. — ORGANES SEXUELS

A. — Observations sur matériel vivant.

Nous avons examiné le *P. deliense* de divers points de vue. La reproduction sexuelle a pu être étudiée avec quelque détail en faisant pousser le Champignon sur de petites boîtes de Petri renfermant des couches très minces d'agar-farine de Maïs ou d'agar pur. Pour l'examen au microscope, les boîtes ont été retournées, mais cette façon de faire ne permet pas un bon examen. Aussi avons-nous préféré opérer de la façon suivante. On place dans de grandes cellules de van Tieghem, en goutte pendante, une mince couche de farine de Maïs stérilisée ou d'agar pur, que l'onensemence. L'examen peut alors être poursuivi à de forts grossissements. Lorsque la température de la pièce est à environ 29-31°C on peut aussi prélever une petite touffe de mycélium aérien dans les boîtes de Petri que l'on porte en goutte pendante dans de la solution de Petri, sur cellule de Van Tieghem. Dans ce cas, les organes sexuels se forment très rapidement. Enfin on peut examiner directement ce mycélium, après avoir ajouté 4% mgr. de rouge neutre à la culture.

D'ordinaire les hyphes porteurs d'anthéridies sont dressés et ceux porteurs d'oogones — qui prennent naissance sur les premiers — sont fortement inclinés vers ceux-ci (pl. XIV, fig. 2). Même lorsque les hyphes à anthéridies et à oogones sont parallèles (pl. XIV, fig. 1) les seconds s'incurvent vers les premiers.

Formation des organes sexuels.

Anthéridies. — L'extrémité de l'hyphe cesse de s'allonger et commence à grossir légèrement. Sa taille s'accroît peu à peu par apport de protoplasma dense, renfermant de nombreux globules graisseux, et, finalement, cette extrémité se sépare du reste du filament par une cloison transversale. Grâce à ces modifications, l'anthéridie a acquis sa forme définitive et présente une petite protubérance latérale (pl. XIV, fig. 1 et 3). Si les anthéridies sont

intercalaires l'hyphe ne se renfle pas ; le protoplasma devient simplement plus dense en certains points de l'hyphe et certaines portions du cytoplasma se trouvent délimitées par formation de deux cloisons transversales, une de chaque côté. Cette fois encore, cependant, l'anthéridie n'acquiert sa forme normale que lorsque apparaît la petite protubérance latérale (pl. XIV, fig. 2).

Oogones. — Le début de la formation de ces organes est apparemment le même que celui des anthéridies, mais très tôt la partie terminale renflée s'élargit davantage et il y a un apport beaucoup plus considérable, que dans le cas précédent, de cytoplasma riche en globules graisseux de petite taille. L'oogone acquiert rapidement sa taille normale et se trouve séparé du reste de l'hyphe par une cloison transversale. On le voit placé contre l'anthéridie dès le début de sa différenciation.

Dans les deux sortes d'organes sexuels, à ce moment, on peut constater, en faisant agir le rouge neutre, qu'il n'existe pas de vacuole de grande dimension. Les vacuoles que l'on aperçoit sont petites (pl. XIV, fig. 4) et en beaucoup plus grand nombre dans l'oogone que dans l'anthéridie. On distingue, de plus, à l'intérieur des vacuoles, des précipités analogues à ceux rencontrés dans les vacuoles du mycélium. Le vert Janus ne donne pas de résultats bien nets, en raison de la trop grande abondance de globules graisseux dans le cytoplasma. Néanmoins, on peut reconnaître la présence de mitochondries granuleuses et de quelques bâtonnets (pl. XIV, fig. 12). Un traitement par l'acide osmique à 1 %, le Soudan III ou la benzine montre nettement que les particules nutritives sont bien les globules graisseux.

Chondriome et système vacuolaire aux stades avancés. — On distingue aisément les courants cytoplasmiques à l'intérieur de l'oogone. Dans cet organe, on voit les petites vacuoles apparaître et disparaître, puis fusionner entre elles et en constituer de plus grosses. Après quelque temps, une grande partie du protoplasma prend un aspect irrégulier par suite de l'accumulation des globules graisseux et se condense en une masse centrale. Tout autour on voit une étroite zone hyaline où le cytoplasma n'est jamais dense et ne renferme que quelques globules graisseux (pl. XIV, fig. 3 et 7). Il semble qu'il s'agisse là de la différenciation en partie centrale ou ooplasme et en partie périphérique ou périplasme. Une coloration vitale

au rouge neutre conduit aux mêmes résultats et l'on constate alors que, dans la partie hyaline périphérique, il n'y a que quelques très petites vacuoles, tandis que dans la partie centrale on voit de nombreuses grosses vacuoles (pl. XIV, fig. 5), en même temps que de petits amas de globules graisseux. Pendant que ces transformations s'opèrent à l'intérieur de l'oogone, un tube émerge de la partie renflée de l'anthéridie, et pénètre à l'intérieur de l'oogone. Après quelque temps, la plus grande partie du contenu de l'anthéridie passe rapidement à l'intérieur de ce canal, une faible portion demeurant dans l'anthéridie. Une coloration au rouge neutre fait alors apparaître dans celle-ci quelques petites vacuoles et une coloration par le Soudan III, ou l'acide osmique, quelques globules graisseux (pl. XVI, fig. 1). Mais il n'y a pas de différenciation en gonoplasme et en périplasme, à ce stade.

Ensuite, on voit diminuer le nombre des globules graisseux dans la partie centrale de l'oogone, tandis que les vacuoles fusionnent pour en constituer de plus grosses (pl. XVI, fig. 8), jusqu'à ce qu'il n'y en ait plus qu'une seule. A ce moment, si l'on traite l'oogone par le liquide de Lugol, on constate l'apparition du glycogène; celui-ci est diffus dans tout le cytoplasme qui prend, dans son ensemble, une coloration acajou. Il semblerait que le glycogène se forme aux dépens des lipides. Si l'on traite l'oogone par l'acide osmique le cytoplasma apparaît d'abord brun foncé, donnant une réaction analogue à celle des granulations lipidiques et le Soudan III le colore parfois, à ce stade, en rouge. Plus tard, il y a condensation du glycogène et celui-ci apparaît sous forme de globules (pl. XVI, fig. 2). Entre temps, une membrane s'est formée qui entoure la partie centrale, elle s'épaissit progressivement et prend un aspect blanchâtre dans l'oogone parvenu à maturité. Nous avons traité alors cette membrane par une solution de chloro-iodure de zinc, par l'acide sulfurique et aussi l'acide iodhydrique fumant et l'hydrate de chloral concentré, mais sans obtenir les réactions de la cellulose. Il en va de même avec le bleu coton et le rouge de ruthénium. •

Finalement, on ne distingue plus de vacuoles dans l'oospore mûre, le rouge neutre ne donne pas de coloration. Par contre on distingue un globule de réserve et un corps réfringent placé entre celui-ci et la membrane (pl. XVI, fig. 3). Nous avons tenté de déterminer la nature chimique de ce globule de réserve, mais nos conclu-

sions demandent vérification. Traité par le réactif de Millon, l'acide azotique et l'ammoniaque, il n'a pas fourni les réactions des protides et est demeuré incolore. Il est insoluble dans la benzine, l'éther ou le chloroforme; ne se colore pas par le Soudan III, ni par l'acide osmique, ce qui exclut, par conséquent, l'idée qu'il s'agit d'un corps gras. A l'intérieur du globule, on distingue parfois une grande ou plusieurs petites cavités (pl. XVI, fig. 4 et 5.)

Bref, nous n'avons pu préciser la nature de la membrane de l'oospore, ni du corps de réserve, que l'on peut rapprocher, quant à sa morphologie de celui décrit par Trow (1901) chez *P. ultimum*. Probablement la membrane de l'oospore est-elle constituée par de la chitine.

B. — Observations sur matériel fixé.

Tous les fixateurs utilisés lors de la fixation du mycélium ont été employés ici, mais les résultats les meilleurs ont été obtenus avec le liquide de Flemming fort, agissant pendant 6 et 12 heures. La coloration a été faite par l'hématoxyline, car ni la triple coloration de Flemming, ni la méthode de Gram utilisée par Couch (1932) ne nous ont paru convenir. Nous avons ajouté un peu de safranine avant l'inclusion, afin de faciliter celle-ci et cette coloration légère a disparu facilement lors du montage des coupes. Nous avons employé trois milieux de culture pour nos Champignons : l'agar-farine d'Avoine, l'agar-farine de Maïs et la solution de Petri. Dans ce dernier cas, ce sont des mycéliums aériens prélevés sur agar-farine d'Avoine qui ont été transportés dans la solution. Un certain nombre de boîtes de Petri furentensemencées en même temps et, lorsque apparaissent des organes sexuels, de petits fragments du milieu recouvert de mycélium étaient prélevés au moyen d'un scalpel et directement placés dans le fixateur. Nous avons opéré nos fixations deux fois par jour, ce qui nous a permis de fixer des stades de développement différents, le matériel étant chaque fois emprunté à une nouvelle culture. On notera ici que les mélanges d'alcool et de xylol doivent être très progressifs, car on provoque une forte plasmolyse quand on passe, sans transition, le matériel de l'alcool absolu dans le xylol pur.

Formation des organes sexuels. — Les observations que nous avons pu faire sur matériel non fixé se trouvent confirmées. On voit

le protoplasma renfermant de 4 à 6 noyaux passer dans le filament destiné à donner l'anthéridie (pl. XV, fig. 1) et celle-ci acquérir progressivement son aspect caractéristique, puis se séparer du reste de l'hyphe par une membrane transversale (pl. XV, fig. 2). De même, on voit s'accumuler le protoplasma porteur de 12 à 20 noyaux environ dans les parties terminales de l'hyphe destiné à évoluer en oogone (pl. XV, fig. 1). Quand sa taille définitive a été atteinte, l'oogone se sépare par une cloison transversale de l'hyphe porteur (pl. XV, fig. 2). Quelques noyaux à la base des très jeunes oogones et des jeunes anthéridies prennent une forme allongée suivant la direction des courants cytoplasmiques (pl. XV, fig. 1). Dans les deux sortes d'organes, les noyaux apparaissent tout d'abord comme de petits corps, mais ils ne tardent pas à augmenter de volume et plus spécialement dans les oogones (pl. XV, fig. 2). Le cytoplasma est réparti uniformément, tandis que les noyaux sont distribués sans ordre ; on voit quelques petits vacuoles (pl. XV, fig. 3). Dans les oogones, les noyaux semblent plus riches en chromatine et être un peu plus grands que dans le mycélium. Jamais on ne rencontre, à ce stade, de noyaux en dégénérescence. Rapidement, au contraire, ils se divisent, quel que soit leur emplacement.

Division nucléaire. — D'après les images qu'il nous a été donné de rencontrer, tant dans le mycélium que dans les organes sexuels, nous pouvons ainsi décrire la mitose chez *P. deliense*.

L'indice de l'entrée en division se marque par une augmentation de la taille du noyau. Les granules chromatiques se transforment ensuite en chromosomes de forme ovale ou en petits bâtonnets (pl. XIII, fig. 10 et pl. XV, fig. 13), tandis que le nucléole est rejeté sur le côté. Il se forme ensuite un fuseau d'apparence fibrillaire, sur lequel les chromosomes viennent se ranger en plaque équatoriale ; la membrane nucléaire se dissout et disparaît. Aucun corps chromatique n'est situé aux extrémités polaires du fuseau et nous ne pensons pas qu'il existe de centrosome. Nous avons rencontré un très grand nombre de bonnes figures métaphasiques dans l'oogone de *P. deliense*. Là non plus la membrane nucléaire n'est plus visible à ce stade. Il nous a été impossible de fixer avec sûreté le nombre de chromosomes qui paraît être tantôt de 4, tantôt de 8.

A la métaphase, le nucléole a complètement disparu. A la télophase (pl. XIII, fig. 10) la membrane nucléaire réapparaît ; mais les images sont généralement peu nettes.

D'une façon générale, les noyaux des *Pythium* ressemblent à ceux de *Saprolegnia* et tels qu'ils ont été décrits par DAVIS (1903) et par DANGEARD (1931) chez le *P. muscae*. La division rappelle celle des mêmes éléments chez *P. de Baryanum* et *P. ultimum* (MIYAKE 1901 et TROW 1901), chez *Cystopus* et chez *Peronospora* (WAGER 1896, 1900, STEVENS 1899, DAVIS 1900), chez *Saprolegnia* (DAVIS 1903) et chez *Achlya de Baryanum* (TROW 1904). La persistance de la membrane nucléaire durant les premiers stades au moins de la mitose a été vue par MIYAKE (1901), puis par WAGER, STEVENS et DAVIS chez *Cystopus*. D'autre part, DAVIS (1903) et COUCH (1932) ont indiqué l'existence d'un fuseau intranucléaire chez *Saprolegnia* et chez *Leptolegnia caudata*. Chez aucune espèce de *Pythium*, sauf *P. torulosum*, il n'a été signalé de centrosomes et si MIYAKE indique la présence, parfois, de granules aux pôles du fuseau, il ne leur donne pas, toutefois, le nom de centrosomes. WAGER et DAVIS n'en rencontrèrent pas non plus chez *Saprolegnia*, mais d'autres auteurs, tel Trow, en ont vu chez *Achlya de Baryanum*, MURPHY (1918) chez *Pythophthora erythroseptica* et, plus récemment encore, COUCH (1932) chez *Leptolegnia caudata*.

De place en place, dans le mycélium, on rencontre des noyaux qui paraissent se diviser par amitose et ceci surtout après fixation au liquide de Bouin, mais cette question nous paraît devoir être réservée.

Stades finaux. — Après la division des noyaux, ou même aux dernières phases de ce processus, on voit apparaître dans le cytoplasma de grandes vacuoles, qui repoussent les noyaux dans la zone périphérique (pl. XV, fig. 5). Le cytoplasma de la région centrale (ooplasme) devient plus dense et se colore plus intensément; il est entouré par une bande de cytoplasma, moins dense : le périplasme (pl. XV, fig. 6 et 7). L'ooplasme poursuit sa différenciation et il se forme une zone en étoile au centre, plus dense, qu'entoure une couche plus vacuolisée (pl. XV, fig. 7, 8 et 11). Cette partie centrale, à laquelle on pourrait donner le nom de centralplasme, se colore plus fortement mais n'apparaît, toutefois, jamais en noir sur les préparations. Un des noyaux de la zone périphérique, plus grand que les autres, commence à se diriger vers le centralplasme de l'ooplasme et s'étire (pl. XV, fig. 6 et 7). C'est le noyau ♀. Son déplacement peut être dû aux mouvements des vacuoles que l'on distingue

fort nettement *in vivo*. Finalement, le noyau ♀ prend la place qu'il doit occuper dans le centralplasme (pl. XV, fig. 8) et qui n'est pas toujours au centre. L'ooplasme ainsi pourvu du noyau ♀ constitue l'oosphère. Parfois, dans des préparations défectueuses, une partie du centralplasme apparaît comme une tache noire et on ne peut guère y distinguer le noyau femelle (pl. XV, fig. 9). Pendant la migration de ce noyau, ceux situés à la périphérie s'estompent de plus en plus et finissent par disparaître.

Tandis que les noyaux de l'oogone sont en métaphase, ceux de l'anthéridie commencent à entrer en mitose et quelques-uns sont même parfois en prophase (pl. XV, fig. 4). Mais les images sont moins facilement lisibles. Un seul noyau persiste dans l'anthéridie; celle-ci émet un prolongement tubulaire qui s'allonge à l'intérieur de l'ooplasme. Il contient un unique noyau (pl. XVI, fig. 6) qu'il envoie finalement dans l'ooplasme (pl. XVI, fig. 7). Ce noyau mâle est généralement moins grand que le noyau femelle. Après la fécondation une membrane commence à se dessiner tout autour de l'ooplasme (pl. XV, fig. 11). A l'intérieur de l'anthéridie, qui s'est ainsi vidée de la plus grande partie de son contenu, on voit une petite portion de protoplasme (pl. XV, fig. 11 et pl. XVI, fig. 1), ce qui prouve que tout le contenu de cet organe n'est pas passé dans l'ooplasme.

L'oospore mûre. — Les deux noyaux, mâle et femelle, se fusionnent (pl. XV, fig. 11) et ensuite le noyau de fécondation demeure en repos à l'intérieur de l'oospore dont la membrane s'épaissit (pl. XV, fig. 12). On rencontre, à ce moment, du glycogène à l'état diffus dans le cytoplasme *in vivo*. La membrane externe peut être qualifiée d'exospore et l'on peut donner, à la couche plus dense, formant dépôt, située immédiatement en-dessous, et qui paraît constituer une membrane interne, le nom d'endospore (pl. XV, fig. 12). On ne rencontre plus de vacuoles dans l'oospore à maturité.

Le chondriome. — Nous avons eu recours, dans cette étude, à la fixation par le liquide de Helly. On voit des mitochondries granuleuses et des bâtonnets. (Pl. XIV, fig. 13 et 14). On peut obtenir des images superposables après fixation au liquide de Flemming fort (pl. XV, fig. 4, 6 et 7).

(A suivre.)

DIPTÉROCÉCIDIES
PRODUITES PAR
***RHOPALOMYIA MILLEFOLII* (H. Löw)**
SUR *ACHILLEA MILLEFOLIUM*
par M. Pierre LEGÉE

INTRODUCTION

Achillea millefolium présente de nombreuses zoocécidies ; d'après HOUARD (1), exception faite de quelques acariens, d'un nématode et d'un hémiptère, toutes les autres sont dues à huit genres différents de diptères : *Rhopalomyia Millefolii*, notamment, provoque des galles sur la tige, les feuilles, les fleurs et le collet.

A l'exception des cécidies florales, nous avons pu nous procurer les autres récoltées à Saint-Pierre-en-Port (Seine-Inférieure), en 1922-1924. DAGUILLON (2) a fait paraître une étude d'une galle de tige : après en avoir donné une description d'ensemble, nous en prendrons l'étude anatomique ; nous préciserons ensuite les rapports qui lient la galle à son support ; enfin, nous étudierons les altérations à distance qui en résultent pour celui-ci.

La technique employée est très simple : les coupes, faites en série, sont passées à la double coloration carmin-vert d'iode.

I. — DESCRIPTION D'ENSEMBLE

Rhopalomyia Millefolii, diptère du groupe des cécidomyies, pique l'*Achillea*, et y dépose ses œufs à une très faible profondeur (3), probablement sous l'épiderme. La piqûre et la larve provoquent une réaction qui se traduit par une galle de forme très caractéristique.

(1) Voir à la fin du mémoire, l'index bibliographique.

Elle est ovoïde, légèrement pédonculée; elle mesure de 5 à 8 millimètres, et les galles de pétioles sont plus petites que les galles de tige. D'abord vertes, plus tard brunes ou d'un noir luisant, elles présentent au sommet un petit pore duquel émerge un mince faisceau de poils; cette extrémité distale, par la suite, se découpe en lobes, quatre en général, qui se recourbent vers l'extérieur.

Sur la tige, ces galles se placent presque toujours à l'aisselle des feuilles; ce sont donc, d'après la terminologie de HOUARD (5), des acrocécidies de bourgeons. D'autres, très rarement, se fixent sur l'entre-nœud (pleurocécidies caulinaires). Les galles de feuilles sont fixées sur le pétiole lui-même, ou bien elles occupent la position d'un segment du limbe, au voisinage du pétiole.

Souvent, de nombreuses cécidies sont insérées à la même hauteur, au même nœud; certaines d'entre elles, deux ou trois en général, peuvent se fusionner d'une manière plus ou moins complète; on observe parfois plusieurs galles pour un seul pédoncule; leurs parties basales peuvent également se souder; enfin, la forme globuleuse parfaite, pluriloculaire, est souvent réalisée, avec trois pores distaux correspondant à trois galles, ou même un seul pore; dans ce dernier cas, seules, la taille anormale, et une coupe transversale de la cécidie peuvent nous montrer qu'elle est pluriloculaire.

Enfin, il arrive que la plante est réduite à une masse de galles, pressées les unes contre les autres, au collet, et duquel n'émergent que quelques rameaux grêles.

II. — ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DE LA GALLE

Pour la commodité de l'exposé, nous comparons la galle à un petit rameau ovoïde qui possède un axe longitudinal; nous distinguerons de même des sections transversales, et dans celles-ci, des directions radiales et tangentielles.

Une section longitudinale, vue à la loupe, montre au centre une cavité larvaire, ovoïde également; un tube étroit l'unit au pore distal. La moitié de la cavité larvaire, voisine du tube, est garnie de gros poils turgescents, normaux à leur surface d'insertion. Au dessus, les poils tubulaires qui émergent de la galle, sont beaucoup plus fins; ils naissent normalement à la surface, se courbent vers

l'extérieur suivant l'axe, et sont si serrés, qu'ils rendent pratiquement close, la chambre occupée par la larve.

En section transversale, nous obtenons une figure parfaitement radiaire, sauf dans le cas où le corps de la galle se soude partiellement à la tige ; il en résulte alors un aplatissement de la surface de contact, une symétrie bilatérale qui, d'ailleurs, se retrouvera dans la structure des tissus.

Ceux-ci se disposent en zones concentriques très nettes, et nous distinguons, en allant vers l'intérieur : l'épiderme ; la zone corticale ; le parenchyme à grandes cellules qui contient le système vasculaire ; la zone de soutien, et l'assise nourricière qui revêt la cavité larvaire.

1. L'épiderme.

L'épiderme de la galle passe d'une manière continue à celui de la tige. Celui-ci est formé de cellules très allongées suivant l'axe, à membranes épaissies, d'autant plus, semble-t-il, que le paren-

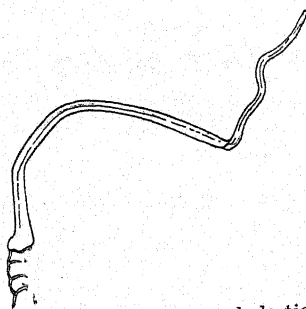


Fig. 1. — Poil épidermique de la tige.

chyme cortical sous-jacent est plus riche en amidon ; il porte des poils très caractéristiques (fig. 1), pluricellulaires, unisériés avec cellule terminale très allongée. On y observe, de plus, quelques stomates. L'épiderme foliaire, formé de cellules plus courtes, à contour sinueux, est semé de nombreux stomates. Il porte également des poils, analogues à ceux de la tige.

L'épiderme de la cécidie reste nettement épaissi ; il est toujours lisse, et sans poils. Mais la forme et les dimensions de ses cellules

sont très variables. Au ventre d'une galle nettement pédonculée, les cellules apparaissent carrées en section transversale. Mais lorsqu'il y a adhérence partielle à la tige, leur disposition rappelle un épithélium cylindrique en regard de la surface en contact, alors qu'elles sont très plates du côté opposé (fig. 2). De toute façon, vers le pédoncule, on passe insensiblement à l'épiderme de la tige. L'épiderme des cécidies foliaires est très comparable : mais les stomates, déjà moins nombreux que sur la tige, sont beaucoup moins nombreux que sur la feuille.

En somme, l'épiderme de la galle rappelle celui de la tige par son épaissement et s'en distingue par l'absence de poils ; la diversité dans la forme et les dimensions de ses cellules témoigne des influences mécaniques subies lors de sa formation.

2. La zone corticale.

Sous l'épiderme vient une zone de cinq ou six assises qui, d'après leur aplatissement dans le même sens que l'épiderme et leur disposition concentrique, constituent une sorte d'écorce autour de la cécidie. Toutes les cellules de cette zone sont légèrement allongées suivant l'axe de la galle ; les deux ou trois assises externes sont collenchymateuses ; les autres assises sont faites de cellules à parois minces, et elles renferment des quantités notables d'amidon.

3. La zone parenchymateuse.

C'est de loin, la masse principale de la galle ; elle représente les quatre cinquièmes de l'épaisseur totale, depuis la zone corticale jusqu'à la zone de soutien. Les cellules qui la constituent sont très volumineuses ; leurs membranes sont minces, à contours arrondis, laissant entre elles de nombreux méats, alors que la zone corticale est compacte. Toutes ces cellules ne présentent dans leur arrangement, aucune disposition radiaire ou concentrique privilégiée. Elles diffèrent encore des cellules corticales par leur net allongement suivant l'axe de la galle, et leur très faible teneur en amidon.

Autour des faisceaux libéroligneux inclus dans cette masse parenchymateuse à grandes cellules, les méats disparaissent, les cellules, plus petites en section transversale, mais beaucoup plus

allongées dans le sens des faisceaux, s'ordonnent en couronne, et se chargent de grosses quantités d'amidon.

Vers l'intérieur, au contact de la zone de soutien, les méats disparaissent encore, et les cellules se répartissent graduellement en assises concentriques ; on passe insensiblement à la zone de soutien.

Les deux zones parenchymateuses, zone corticale et zone à grandes cellules, qu'on pourrait confondre *a priori*, se distinguent donc l'une de l'autre par les caractères suivants : présence de quelques assises corticales collenchymateuses ; forme, dimensions et arrangement des cellules, avec ou sans méats ; quantité variable d'amidon. Enfin, les variations dans la forme des cellules épidermiques se retrouvent, avec les mêmes caractères, dans la zone corticale, mais plus atténuées, et elles sont encore plus faibles dans le parenchyme à grandes cellules.

4. Le système vasculaire.

Il est formé de petits faisceaux libéro-ligneux répartis suivant un cercle, quelquefois deux, dans le parenchyme à grandes cellules. Tous les faisceaux convergent vers le pédoncule et forment une corbeille conique, à simple ou double paroi, dont l'ouverture est tournée vers l'extrémité distale. Les ramifications des faisceaux se font dans deux sens : radialement d'abord, vers le pédoncule, ce qui aboutit à la formation de deux cercles de faisceaux, très rarement trois ; tangentiellement aussi et le nombre de faisceaux augmente alors sur chaque cercle. De petits faisceaux isolés (fig. 2) proviennent aussi de ramifications radiales.

Chaque faisceau, à l'intérieur d'assises parenchymateuses en couronne, présente, à l'extérieur, un flot de fibres peu ou pas lignifiées ; plus près du centre vient une bande tangentielle de liber, puis des vaisseaux ligneux, annelés ou spiralés, de très petit calibre, en une ou plusieurs files radiales, séparées alors par des rayons parenchymateux.

En somme, le système vasculaire accuse une très nette symétrie radiaire, mais lorsque la galle se soude à la tige, les faisceaux sont plus serrés du côté de la soudure. Nous retrouvons donc la transformation que nous suivons depuis l'épiderme.

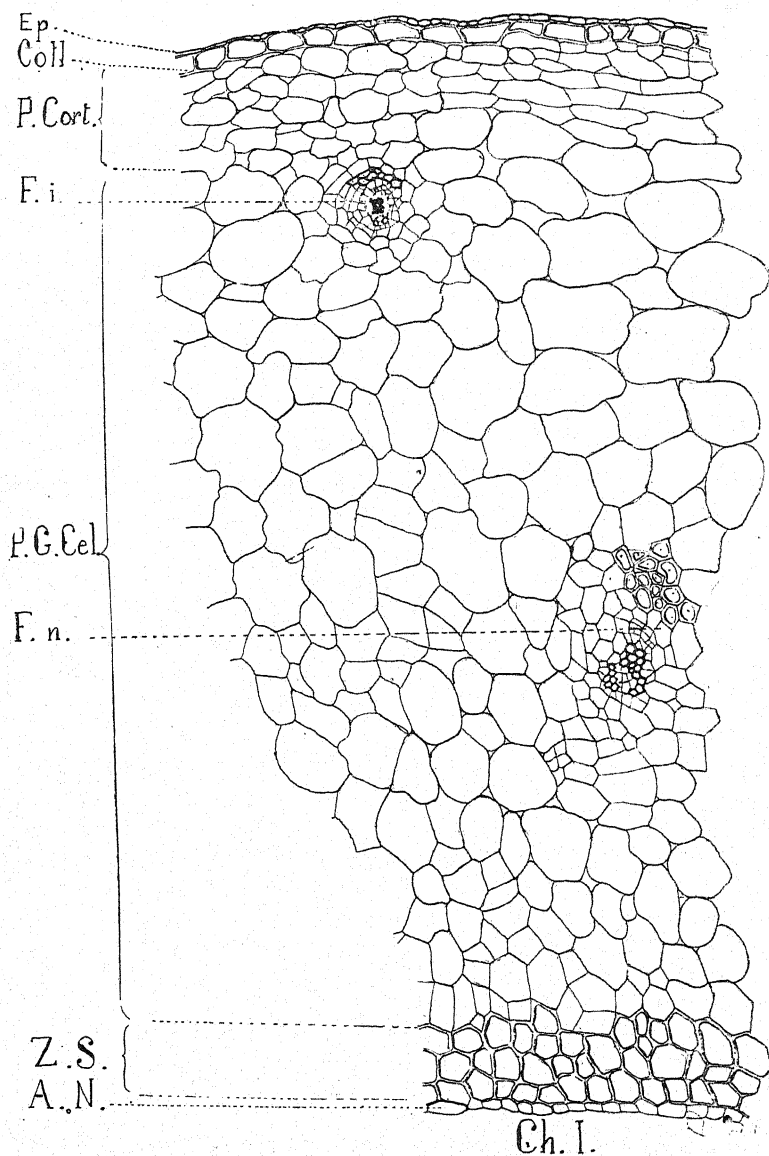


Fig. 2. — Coupe transversale de la galle.

Ep. Epiderme ; *Coll.* Collenchyme ; *P. Cort.* Parenchyme cortical ; *F. i.* Faisceau isolé ; *P. G. Cel.* Parenchyme à grandes cellules ; *F. n.* Faisceau normal ; *Z. S.* Zone de soutien ; *A. N.* Assise nourricière.

5. La zone de soutien.

Elle est formée de cellules très allongées dans le sens longitudinal, à parois épaisses cellulósiques, qui se lignifient fortement par la suite; elles se groupent en assises concentriques, six au plus, à la hauteur de la cavité larvaire; au-dessous, comme l'a montré DAGUILLON, leur longueur diminue, le nombre d'assises augmente, et elles forment ainsi un massif scléreux sous la cavité larvaire. Au-dessus, par contre, autour du tube qui unit la chambre de la larve au pore distal, la zone de soutien reste cellulósique.

6. Revêtement de la Cavité larvaire.

Enfin, le revêtement interne est une assise, nourricière, de cellules à parois minces, mamelonnée, au fond de la chambre lar-

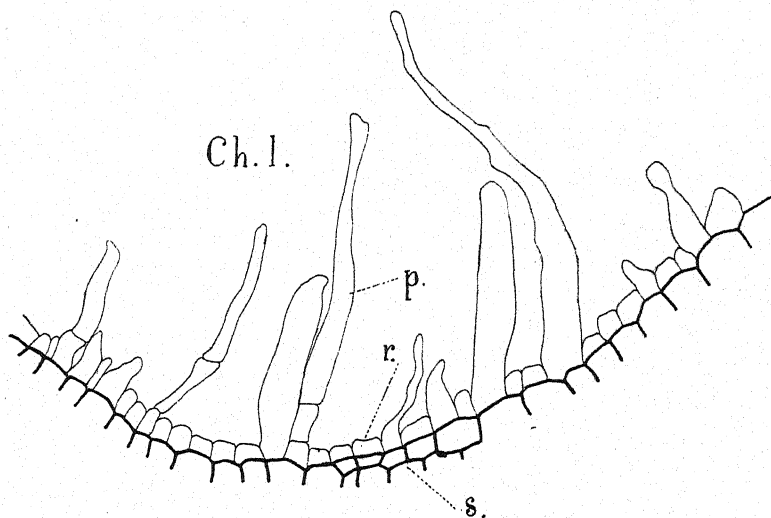


Fig. 3. — Revêtement de la cavité larvaire.

s. Zone de soutien; r. Cellule ordinaire de l'assise de revêtement; p. poil de l'assise de revêtement; Ch. l. Chambre larvaire.

vaire, au contact du massif scléreux. A la hauteur de la larve (fig. 2), les cellules se sont allongées suivant l'axe et forment, en coupe transversale, une assise parfaitement régulière. Plus haut encore, une pilosité se développe, et on peut la suivre jusqu'au débouché

du tube à l'extérieur. Dans la chambre, mais au-dessus de la larve, on trouve tous les intermédiaires entre les cellules ordinaires de l'assise nourricière, et de gros poils, unicellulaires aussi, ou parfois cloisonnés d'une manière quelconque (fig. 3), pouvant atteindre le milieu de la chambre. Vers l'extrémité du tube, la pilosité se rapproche des poils normaux, et comme l'a montré DAGUILLON, l'assise passe en continuité à l'épiderme gallaire.

Nous venons de décrire une galle normale, telle qu'on la rencontre, isolée sur une tige ou un pétiole. Cependant, lorsqu'on a affaire à un groupe de galles, plus ou moins soudées, le parenchyme à grandes cellules montre de grandes cavités tapissées par une assise très mince et très régulière de cellules allongées suivant l'axe de la cavité. On trouve d'ailleurs tous les intermédiaires entre un méat entouré de quelques cellules et ces grandes cavités qui peuvent atteindre le quart de la chambre larvaire. Ces cavités sont certainement en rapport avec la croissance très rapide des tissus.

Et maintenant, comment une structure si complexe est-elle dérivée de tissus normaux ? C'est l'objet du chapitre suivant.

III. — RAPPORTS ANATOMIQUES DE LA GALLE ET DE SON SUPPORT

DAGUILLON a envisagé de rechercher quelle était la signification morphologique de la cécidie ; pour lui ce serait un bourgeon profondément transformé, et « il n'est pas aisé de dire quels sont les éléments qui représentent la partie caulinaire du bourgeon, et lesquels reviennent aux unités foliaires ».

Nous ne pensons pas qu'il faille rechercher dans les différents éléments de la galle, les traces d'un organe quelconque, le bourgeon par exemple. Si en général, la galle est une « acrocécidie de bourgeon », il est très probable que l'insecte a piqué un méristème qui s'est alors différencié dans un tout autre sens. D'ailleurs les pleurocécidies caulinaires et les galles foliaires ont la même structure ; et les galles florales, d'après HOUARD, ont le même aspect. La cécidie semble donc avoir une structure propre, caractéristique surtout de l'insecte générateur.

Enfin, si le développement de la cécidie permet d'élucider cette question, nous pensons pouvoir la résoudre en précisant le raccord des tissus gallaires et des tissus normaux.

Il y a lieu de distinguer les galls de pétioles, dérivées de formations primaires, des galls de tiges assez âgées, avec des formations secondaires.

1. Galls de pétioles.

Le pétiole normal a une symétrie bilatérale très nette, marquée essentiellement par un faisceau libéro-ligneux central et deux faisceaux latéraux plus petits (fig. 5). Comme ceux de la galle,

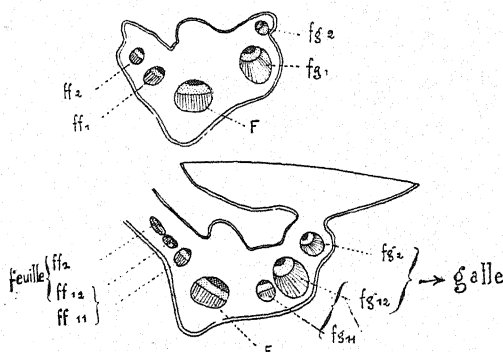


Fig. 4. — Insertion de la galle sur le pétiole.
(Coupes au-dessous et à la hauteur de l'insertion.)

F. Faisceau central; ff. Faisceaux foliaires; fg. Faisceaux gallaires.

chaque faisceau comprend des files de vaisseaux annelés et spirales séparées par des bandes unisériées de cellules parenchymateuses. Puis, en allant vers la face inférieure, viennent une zone libérienne, et un flot fibreux, non sclérifié. Entre l'épiderme, assez épais, et les faisceaux, se trouve un parenchyme de cellules toutes semblables, à parois minces, arrondies, laissant entre elles de nombreux méats.

Des coupes transversales en série montrent que la galle s'insère sur le pétiole ou sur la nervure principale, d'une manière très variable. En général, pourtant, la marche des faisceaux gallaires est analogue à celle des faisceaux se rendant dans un segment du limbe

(fig. 4). Dans les deux cas, il naît un faisceau latéral, externe ; le faisceau latéral initial se dédouble, et des trois nouveaux faisceaux latéraux, les deux plus externes passent dans le segment du limbe ou dans la galle. Cependant, il arrive que dans le pétiole, le faisceau central, hypertrophié (fig. 5), se dédouble, l'une des parties allant à la galle.

L'insertion de la galle étant précisée, comment se fait la différenciation de ses tissus ? L'épiderme du pétiole ou de la nervure

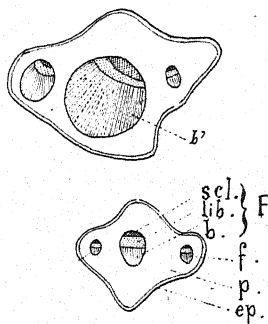


Fig. 5. — Pétiole normal et pétiole déformé.

scl. Sclérenchyme, lib. liber, b. bois, F. faisceau central ; f. faisceau latéral ; p. parenchyme ; ep. épiderme ; b' bois altéré.

passé en continuité à celui de la galle. Au-dessous, le parenchyme se cloisonne radialement et tangentiellement, et passe dans la zone corticale de la galle qui ne présente pas dans ses assises externes, de différenciation collenchymateuse. Le reste des tissus est formé à partir des faisceaux : ceux-ci constituent, au pédoncule, un axe hypertrophié où les vaisseaux normaux sont noyés dans une masse indifférenciée de cellules proliférantes, entourée d'un manchon parenchymateux issu du parenchyme du pétiole. La différenciation se fait comme dans les galles de tige, où nous allons l'étudier plus en détail.

2. Galles de tige.

Dans les cas exceptionnels de pleurocécidies, l'insertion est absolument identique à celle des « acrocécidies de bourgeons ». Mais dans l'un et l'autre cas, cette insertion présente quelques modalités

suivant que la galle est nettement pédonculée, ou plus ou moins adhérente.

L'épiderme et la zone corticale de la cécidie sont issus des zones correspondantes de la tige. Les cellules corticales au voisinage du pédoncule se cloisonnent, radialement surtout : il se forme une sorte de bourgeon qui s'isole de la tige ; c'est le pédoncule dont les zones externes sont d'origine épidermique et corticale. Plus haut, le manchon cortical du pédoncule s'allonge, s'épaissit et s'évase par des cloisonnements transversaux, tangentiels et radiaires. Dans la tige, il existe une zone collenchymateuse sous épidermique, qui, nous le savons, se retrouve dans la galle avec la même situation.

Lorsque la cécidie est nettement pédonculée, l'assise génératrice du cylindre central pousse un diverticule de petites cellules proliférantes formant l'axe du pédoncule ; à l'intérieur de ce diverticule, et nous verrons tout à l'heure comment, sont inclus quelques tissus normaux, notamment des vaisseaux ligneux, qui tranchent par leur coloration verte. Ce cordon pédonculaire, passe dans la galle et s'épanouit, en même temps qu'il se différencie, en une corbeille vasculaire plongée dans le parenchyme à grandes cellules. La différenciation s'opère graduellement, à partir du pédoncule, vers le sommet. Dans la base de la galle, le cordon se scinde en cordons plus minces, mais pas encore différenciés ; au-dessus, dans des ramifications plus minces encore, apparaissent les vaisseaux annelés et spiralés, accompagnés de cellules parenchymateuses très allongées aussi suivant l'axe ; ces faisceaux avec leur manchon de cellules étroites et allongées, s'isolent par des travées longitudinales, d'abord étroites puis qui s'élargissent beaucoup, de parenchyme à grandes cellules. Le maximum de différenciation est acquis au ventre de la galle, que nous avons déjà étudiée.

Lorsque la cécidie adhère partiellement à la tige, l'assise génératrice prolifère beaucoup aussi ; sous l'écorce qui passe latéralement et à différentes hauteurs, à l'écorce de la galle, une partie de la tige normale, moëlle et arc vasculaire disloqué, passe directement dans la galle, le tout noyé dans un amas proliférant issu de l'assise génératrice. La dislocation de l'arc vasculaire ne se fait pas d'une manière quelconque ; le parallélisme des files de formations ligneuses secondaires disparaît ; les files se disposent en rayons divergents (fig. 6) ;

la portion de l'assise génératrice, outre les travées qu'elle envoie entre elles, les contourne complètement, si bien qu'il se forme une assise génératrice circulaire qui fonctionne comme dans une tige normale : elle donne des vaisseaux nouveaux, moins lignifiés et même quelquefois pas du tout, vers l'intérieur, qui continuent les files commencées avec du bois normal ; vers l'extérieur il se forme du

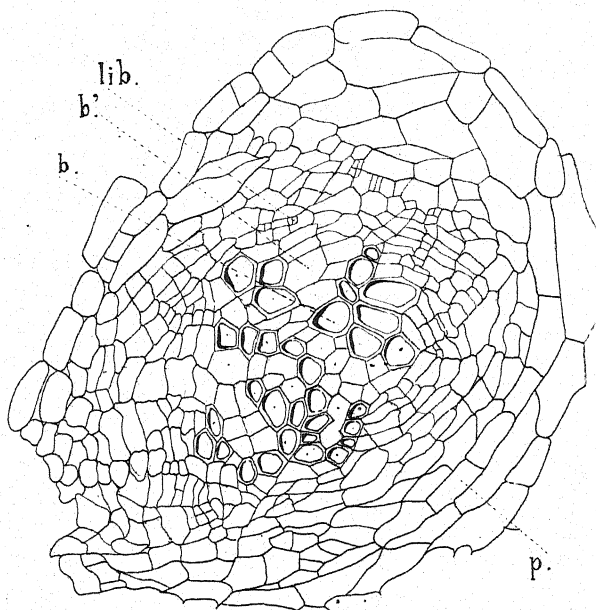


Fig. 6. — Isolement de vaisseaux ligneux par l'assise génératrice.
p. parenchyme ; *b.* vaisseaux ligneux isolés ; *b'*. vaisseaux non encore lignifiés, dans le prolongement des précédents ; *lib.* liber.

liber, et le tout est bordé par un tissu parenchymateux disposé en quelques assises concentriques. Finalement, dans la galle, on constate les mêmes différenciations que celles observées dans une galle bien pédonculée.

La cécidie est donc formée à la fois de tissus normaux, dérivés du support, et de nouveaux tissus formés à partir de l'assise génératrice libéro-ligneuse. Un point cependant n'a pas été élucidé complètement : quelle est la signification morphologique de la zone de soutien, de l'assise de revêtement de la cavité larvaire, et du tube

qui la prolonge. Nous avons été réduit à des suppositions, très probables d'ailleurs, car elles sont fondées sur la biologie de l'insecte et la comparaison à de nombreuses galles étudiées par HOUARD.

Le *Rhopalomyia* pique, et dépose ses œufs à une faible profondeur, son oviscapte étant très court ; le pore distal correspond à la trace de la piqûre ; l'hypertrophie de l'écorce s'est produite au-dessous et autour de la piqûre, et elle a abouti à transformer la piqûre en un canal, et à éloigner l'œuf et la cavité larvaire de la tige. Il s'est donc formé une galle corticale, à l'intérieur de laquelle s'est épanoui un diverticule de l'assise génératrice. Le revêtement pileux de la cavité et du tube correspondrait à l'épiderme : il y a d'ailleurs continuité avec l'épiderme de la galle. Et la zone de soutien, disposée en assises concentriques comme la zone corticale, en serait une différenciation sclérifiée.

En somme, outre la prolifération corticale, le trait essentiel de la formation et de l'insertion de la galle semble résider dans la création et l'épanouissement d'un diverticule de l'assise génératrice ; sa présence apparaît moins curieuse par comparaison avec d'autres galles : pour DAGUILLON, c'est un faisceau qui se rend dans un bourgeon adventif ; mais on ne peut pas assimiler la galle à un bourgeon, et il vaut mieux voir dans le diverticule, un « faisceau irrigateur » ; dans de nombreuses galles où l'assise génératrice est éloignée de la cavité larvaire (laquelle peut être dans la moëlle, ou corticale, ou, comme dans notre cas, à l'extérieur de la tige), il se différencie en effet un faisceau, irrigateur de la cavité larvaire.

Ce diverticule provoqué loin de la larve, n'est pas la seule réaction à distance que nous avons observée : d'autres, qui font l'objet du dernier chapitre, se manifestent dans le pétiole et surtout dans la tige.

IV. — ACTIONS A DISTANCE

1. Dans le pétiole.

On constate, souvent très loin au-dessous de la galle, une hypertrophie du pétiole dont le diamètre peut doubler (fig. 5). Mais cette hypertrophie loin du pédoncule, n'affecte pas tous les tissus. L'épiderme et le parenchyme sont simplement distendus par les fais-

ceaux : ceux-ci, et seuls parmi eux, les faisceaux gallaires, sont hypertrophiés (fig. 4 et 5). On constate une formation très active de cellules entre bois et liber, l'abondance du tissu libérien et de cellules proliférantes qui s'insinuent entre les files de bois normal et les écartent. Le faisceau central voit son diamètre tripler. Ainsi, alors que la prolifération de l'écorce ne se fait qu'au niveau du pédoncule, celle des faisceaux se rencontre bien plus avant, dans le pétiole. D'autre part, le pétiole est normal, au-dessus de l'insertion de la galle.

2. Dans la tige.

Dans la tige normale, sous l'épiderme épaissi et la zone collenchymateuse, on rencontre un parenchyme lacuneux, particulièrement en regard des stomates, puis un parenchyme compact, riche

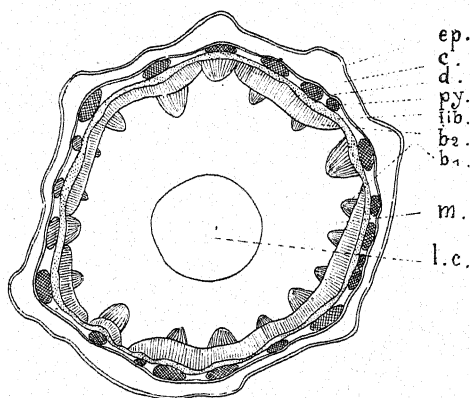


Fig. 7. — Coupe schématique de la tige normale.

ep. épiderme ; *c.* écorce ; *d.* endoderme ; *py.* péricycle ; *lib.* liber ; *b₂* bois secondaire ; *b₁* bois primaire ; *m.* moëlle ; *l.c.* lacune centrale.

en amidon. L'endoderme, très net, montre bien la lignification des cloisons radiales. Le péricycle est formé d'îlots sclérenchymateux, dont certains, plus développés, correspondent aux côtes de la tige (fig. 7 et 8).

Quand les formations secondaires se sont développées, le

système vasculaire est formé d'un anneau libéro-ligneux. Le bois secondaire y est entièrement lignifié ; il n'y a pas de rayons médullaires celluloseux ; on distingue deux sortes d'éléments : des files radiales de cellules à contour polygonal, non parfaitement lignifiées,

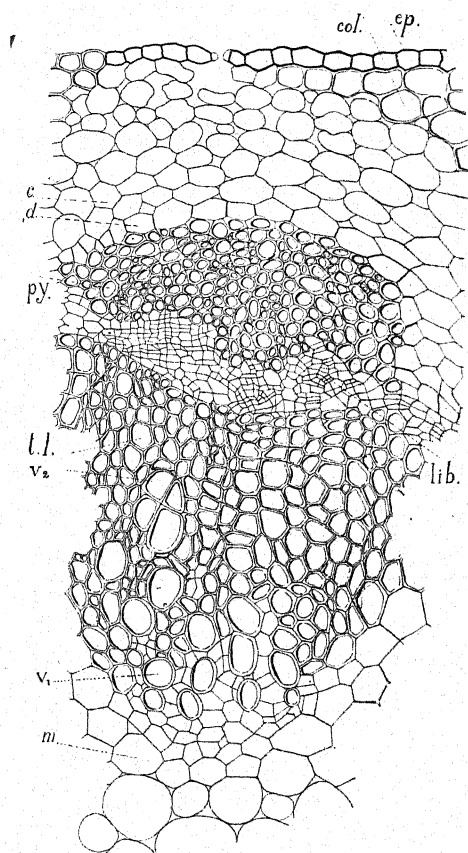


Fig. 8. — Tige normale.

(Mêmes lettres que pour la fig. 7.)

col. zone collenchymateuse ; *v₂* vaisseau ligneux secondaire ; *v₁* vaisseau ligneux primaire ; *tl.* tissu ligneux.

et plus ou moins vivantes, qui alternent avec les vaisseaux ligneux, arrondis, bien lignifiés, et de plus grand diamètre. A l'intérieur de ce bois secondaire se reconnaissent parfaitement les faisceaux pri-

maires formés de files de vaisseaux séparées par des rayons de parenchyme cellulosique. La moelle, enfin, est formée de cellules, grandes, polygonales d'abord, puis arrondies, mais toujours à parois minces, cellulosiques. Le centre de la coupe correspond à une lacune.

La coupe précédente est celle d'une tige, à une certaine distance au-dessous d'un nœud, à la hauteur duquel s'insèrent deux galles alternant avec une feuille et un rameau (fig. 9). Toujours sur la

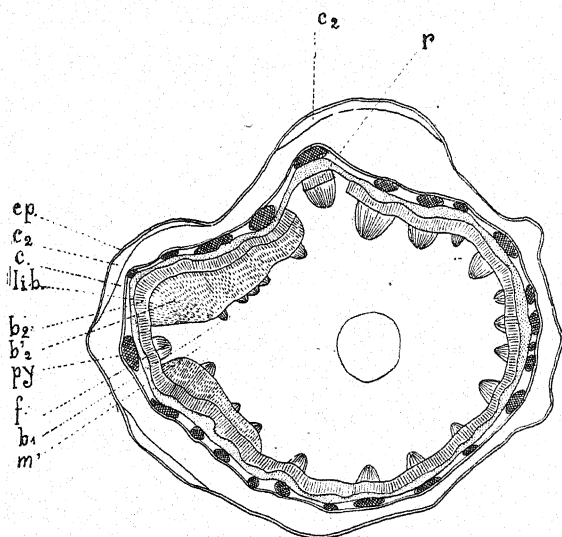


Fig. 9. — Schéma de la tige altérée.

(Mêmes lettres que pour la fig. 7.)

r. origine d'un rameau; f. faisceau foliaire; c₂ formations corticales secondaires; b₂ bois secondaire altéré; m' moelle lignifiée.

même tige, mais plus près du nœud, on constate de notables transformations; le rayon de la tige, dans la direction des galles a doublé, et l'augmentation est due aux altérations subies par l'écorce et le cylindre central.

Sous l'épiderme, qui ne subit pas de transformation sensible, apparaît une zone subérifiée, formée d'une ou deux assises. Elle correspond à une activité précoce de l'assise suberophellodermique qui est sous-épidermique dans le genre *Achillea* [4]. Cette assise a d'ailleurs produit une épaisse couche de phelloderme, en une dizaine

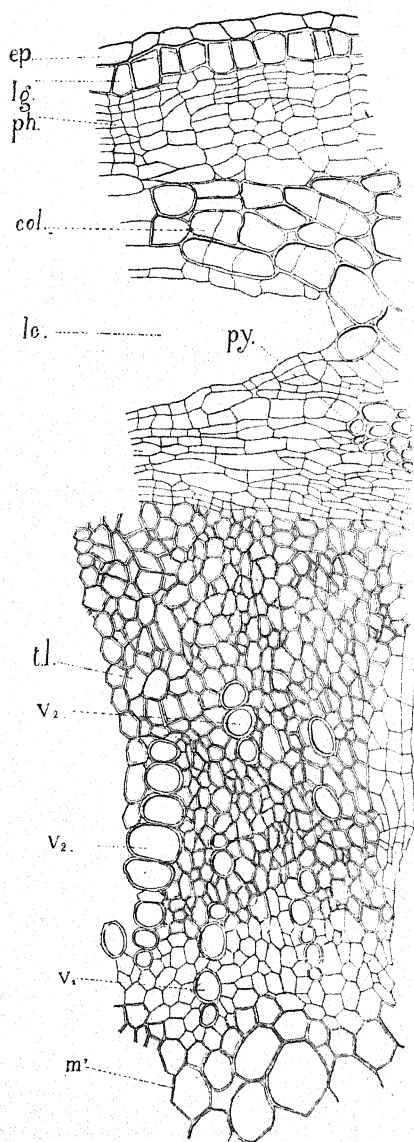


Fig. 10. — Tige déformée.

(Mêmes lettres qu'aux figures 7, 8 et 9.)

lg. liège ; *ph.* phelloderme ; *lc.* lacune dans l'écorce.

d'assises, dont les cellules (fig.10), rectangulaires, allongées tangentiellement, sont disposées en files radiales très nettes. Cette formation de liège, très précoce, est un tissu cicatriciel développé bien avant la chute de la galle, et avant aussi que n'apparaisse le tissu cicatriciel correspondant à la chute des feuilles. Ces formations sont localisées strictement en regard de chaque galle. La zone collenchymateuse, séparée maintenant de l'épiderme, est formée de cellules allongées tangentiellement, se divisant fréquemment : les nouvelles cloisons, radiales, qui apparaissent, sont minces, et contrastent avec les cloisons normales, dans les mêmes cellules. Le reste de l'écorce n'est pas sensiblement altéré.

Le cylindre central subit des transformations non moins intéressantes. Le péricycle est peu modifié ; ses îlots sont simplement écartés l'un de l'autre, et ils se regroupent normalement au-dessus de l'insertion. L'anneau ligneux est profondément altéré. Son épaisseur est souvent triplée et dans l'ensemble, il est moins lignifié et ne présente pas une disposition radiale aussi nette. On distingue trois sortes d'éléments, nettement différenciés. De l'assise génératrice partent vers l'intérieur, des travées de cellules allongées radialement, uni-, bi-, ou trisériées, tout à fait comparables à des rayons médullaires ; mais il n'en existe pas dans l'*Achillea* normale. Puis la masse principale est faite du tissu plus ou moins vivant qui a proliféré activement ; ses cellules sont beaucoup moins bien sclérifiées ; elles perdent souvent leur alignement radial, et sont maintenant bien vivantes, comme l'indiquent le protoplasme et le noyau. Enfin, les vaisseaux ligneux secondaires sont peu touchés : leur calibre a augmenté dans l'ensemble, et leurs files radiales sont éloignées par la prolifération du tissu intermédiaire.

Les faisceaux primaires ne sont pas touchés, les vaisseaux restent bien lignifiés et le parenchyme intercalaire reste nettement cellulosique. Par contre, la moelle est très lignifiée. Il arrive qu'à l'extérieur, l'anneau ligneux comprenne une zone normale, près de l'assise génératrice, mieux lignifiée notamment. La période de prolifération active serait donc postérieure à la structure primaire et antérieure à la zone secondaire normale, toutes deux normales.

Remarquons enfin que les faisceaux foliaires qui se trouvent

dans la zone d'altération ne sont pas atteints, ni dans la disposition régulière des tissus, ni dans la structure des membranes.

En somme, les actions à distance se font sentir uniquement au-dessous de l'insertion gallaire, et remontent très loin à l'intérieur du système vasculaire.

CONCLUSIONS.

Les cécidies foliaires et caulinaires de *Rhopalomyia Millefolii* sur *Achillea Millefolium* sont donc caractérisées :

1° Par leur aspect sur la plante :

- leur forme ovoïde et pédonculée ;
- leur insertion sur le pétiole, la nervure principale, et sur la tige : aux nœuds et très rarement aux entre-nœuds.
- leur coalescence plus ou moins complète.

2° Par leur structure qui présente, autour d'une chambre larvaire :

- une assise nourricière où se développe une pilosité abondante.
- une zone sclérenchymateuse de soutien et de protection.
- un système vasculaire en corbeille dans un parenchyme abondant.
- une zone corticale et un épiderme.

3° Par leur signification morphologique :

a) tissus dérivés de tissus normaux : de l'épiderme et de l'écorce

- épiderme et zone corticale,
- zone de soutien et assise nourricière.

b) tissus de nouvelle formation :

- parenchyme à grandes cellules avec son système vasculaire.

4° Par les réactions à distance dans le support :

a) Hypertrophie de certains tissus :

- faisceaux libéro-ligneux du pétiole et de la nervure principale ;
- début de cloisonnement dans l'écorce de la tige.
- tissu ligneux intercalé entre les vaisseaux secondaires.

b) Formation de nouveaux tissus :

- « Rayons médullaires » dans le bois secondaire anormal.
- Tissu cicatriciel précoce, suberophellodermique.

Ce travail a été exécuté au laboratoire de Physiologie végétale de la Sorbonne sur des échantillons récoltés par M. MOLLIARD, et sous sa direction : nous adressons à notre maître nos plus vifs remerciements.

Nous remercions vivement aussi M. BUCHET et tous ceux qui nous ont aidé de leurs conseils.

BIBLIOGRAPHIE

1. — HOUARD. — Les Zoocécidies des Plantes d'Europe et du Bassin de la Méditerranée. Paris. 1909.
 2. — DAGUILLON. — *Revue générale de Botanique*. 1905, p. 241.
 3. — Renseignements oraux de M. SEGUY. *Laboratoire d'Entomologie : Museum*.
 4. — SOLEREDER. — Systematische Anatomie der Dicotyledonen. Stuttgart. 1899.
 5. — HOUARD. — Recherches anatomiques sur les galles de tiges. *Pleurocécidies*. 1903.
-

RECHERCHES
PHYSIOLOGIQUES ET CYTOLOGIQUES
SUR
QUELQUES ESPÈCES DU GENRE *PYTHIUM*

par M. R. K. SAKSENA

(Suite et fin)

CHAPITRE IV. — A PROPOS DE L'APPAREIL DE GOLGI

C'est en 1898 que GOLGI, par sa méthode d'imprégnation à l'argent, a mis en évidence, dans le cytoplasma des cellules nerveuses, la présence d'un réseau de filaments très fins auquel on a donné le nom d'appareil réticulaire de Golgi. CAJAL a, de son côté, fait l'étude de cet appareil.

KOPSCH, par une imprégnation osmique, a pu obtenir des préparations montrant aussi cet appareil. Par la suite, de nombreux auteurs, après action de l'acide osmique, ont obtenu, dans les cellules animales, des formations teintées en noir qui rappelaient les images décrites par GOLGI et par CAJAL. Ils ont montré la constance de ces formations qui peuvent, cependant, varier de forme. En effet, cet appareil peut se présenter sous l'aspect d'un réseau ou d'un groupe de fibrilles placées d'un côté du noyau ou l'entourant complètement. Souvent il est constitué par quelques petits éléments dispersés dans le cytoplasma et qui apparaissent comme des corps ronds ou ovoïdes constitués par une substance chromophobe, entourée d'une substance chromophile, souvent plus épaissie d'un côté

que de l'autre. Ces éléments sont connus sous le nom de dictyosomes ou éléments de Golgi (GUILLIERMOND, 1935).

De nombreux zoologistes, tels BOWEN, GATENBY, MORELLE, BEAMS, admettent l'existence de corps de Golgi à l'intérieur des cellules animales, indépendamment du système vacuolaire et du chondriome. Pour eux ces éléments correspondent à un constituant important de la cellule. Les études sur ces formations de Golgi ont été surtout poursuivies à l'aide des méthodes d'imprégnation argentine ou osmique d'après Cajal, Golgi, Da Fano, Kopsch, Kolatchev et autres. Mais jamais on n'a pu contrôler, sur les vivants, l'existence de ces formations.

BOWEN (1926-1930), qui les a recherchées dans les cellules végétales, pense que leur homologue peut être rencontré, chez les végétaux, dans les corps qu'il appelle : « plaquettes osmiophiles ». Il indique que celles-ci représentent vraisemblablement une nouvelle catégorie de constituants cellulaires, jusqu'ici passée inaperçue du fait qu'elle ne peut être mise en évidence que grâce à une imprégnation osmique et, suivant cet auteur, la méthode de Kolatchev est la plus propre à la manifester. Il ajoute que si cette méthode est correctement appliquée, les plaquettes osmiophiles sont nettement mises en évidence, en même temps que d'autres formations de nature inconnue. Il donne, d'ailleurs, des conseils précis sur l'emploi de la technique qui doit être suivie, pour que réussite s'en suive, dans les plus minutieux détails. Un certain nombre d'auteurs, tels PATTEN, SCOTT et GATENBY (1928), se rallient à l'opinion de BOWEN.

GUILLIERMOND et ses élèves se sont, de leur côté, beaucoup occupés, de 1922 à 1935, de cette question et ont effectué un grand nombre de recherches sur des matériaux très divers, à l'aide des méthodes habituelles et aussi des colorations vitales. Dans ses deux ouvrages récents, GUILLIERMOND a fait une mise au point de cette importante question.

Cet auteur a montré que les imprégnations argentiques peuvent imprégner exclusivement le chondriome et, dans ce cas, l'imprégnation est la même pour les plastes que pour les chondriosomes proprement dits, qui ne sont généralement pas déformés et demeurent aisément reconnaissables (*Saprolegnia*, racine de Blé, etc.). Parfois le noyau, à l'exception de son nucléole, est seul imprégné (*Saprolegnia*,

Levures) ou encore les chromosomes en mitose (racine de Blé). D'ordinaire, cependant, cette méthode décèle exclusivement le système vacuolaire, dont le contenu est capable de réduire l'argent qui est précipité en filaments ou en réseau, donnant l'apparence d'un appareil de Golgi. Dans les cellules âgées, où les petits éléments du système vacuolaire ont conflué et formé de grosses vacuoles, l'argent est précipité sur les granulations résultant de la précipitation des colloïdes vacuolaires par le liquide fixateur. Ces précipités métalliques peuvent prendre l'aspect de croissants dans les vacuoles de taille moyenne (dictyosomes) ou d'un réseau dans les vacuoles les plus grandes. Les images obtenues correspondent donc en tous points à celles que donne une coloration vitale par le rouge neutre.

Dans ses recherches à l'aide de l'imprégnation osmique, GUILLIERMOND a constaté que si la durée en était courte, par exemple de 8 jours, les chondriosomes sont bien conservés et fortement colorés. Quelques-uns apparaissent gonflés, parfois il y a fragmentation des chondriocontes en plus petits bâtonnets ou en mitochondries (*Saprolegnia*, *Geotrichum lactis*, racines de Blé et de Jacinthe).

Dans les imprégnations de plus longue durée (15 jours), il arrive, dit l'auteur, que, le plus souvent, le noircissement n'est pas limité au chondriome et porte aussi sur le système vacuolaire ; mais, lorsque le chondriome est noirci, les éléments de ce système présentent presque toujours des altérations très importantes. Parfois, ils sont seulement très gonflés : les mitochondries apparaissent sous forme de gros grains et les chondriocontes présentent, sur leur trajet, une série de renflements plus ou moins marqués, ou sont fragmentés en grains et en bâtonnets épars ou en éléments en forme de massues. Les transformations peuvent être de diverses sortes, parfois les vésicules formées par les chondriocontes présentent alors l'aspect tout à fait caractéristique des dictyosomes décrits dans les cellules animales, avec une mince pellicule chromophile, qui s'épaissit généralement sur un côté, et une partie centrale, chromophobe. Ces vésicules peuvent éclater et prendre l'aspect de corps en forme de croissants ou d'écailles également semblables à beaucoup de dictyosomes et aux « plaquettes osmiophiles » de BOWEN et GATENBY, (*Saprolegnia*, *Geotrichum lactis*, racines de Haricot, de Courge, de Pois, bourgeons d'*Elodea canadensis*, etc.).

A l'intérieur des vacuoles, l'osmium est précipité d'une façon à peu près analogue à celle de l'argent.

Dans certains cas, le système vacuolaire est seul imprégné, et dans d'autres ni lui, ni le chondriome ne le sont, mais le cytoplasme est entièrement noirci et prend une structure fibrillaire. Ces imprégnations sont très irrégulières.

En conclusion de ses recherches, GUILLIERMOND montre qu'en dehors des granulations lipidiques ou microsomes, il n'existe dans le cytoplasma des cellules végétales aucune formation permanente autre que le chondriome (plastides et chondriosomes proprement dits) et le système vacuolaire. Il n'y a donc rien en dehors d'eux qui puisse être rapporté à l'appareil de Golgi.

PARAT (1928) étudiant les cellules animales est parvenu aux mêmes conclusions que GUILLIERMOND et il pense que les formations, décrites dans les cellules animales comme représentant l'appareil de Golgi, paraissent se rapporter souvent à un vacuome semblable à celui des cellules végétales, beaucoup d'entre elles aussi semblent correspondre à des images déformées du chondriome ou à une superposition du chondriome et du vacuome.

BOSE (1931) étudiant divers Polypores et Agarics est arrivé à cette conclusion que les « plaquettes osmiophiles » (éléments de Golgi) de BOWEN ne sont autre chose que des chondriosomes altérés ayant subi des transformations dues à l'action irrégulière de l'acide osmique sur les cellules végétales.

A cet égard, il est intéressant de noter l'opinion d'une autre botaniste, WEIER (1930-33), qui a examiné divers Bryophytes et a également utilisé la coloration au rouge neutre. Elle incline à penser que les plastides des cellules végétales sont homologues des corps de Golgi rencontrés dans les cellules animales.

BOWEN (1926) avait, du reste, partagé un moment cette opinion. Récemment DUBOSCQ et GRASSÉ (1933) ont admis que les plastides des végétaux chlorophylliens, l'idiozome des cellules animales et l'appareil parabasal des Flagellés rentreraient dans la catégorie des éléments de Golgi.

Mais cette opinion n'est pas admissible étant donné que les chondriosomes sont aussi bien imprégnés que les plastides par les méthodes golgiennes et que les plastides sont une catégorie spéciale de chondriosomes propres aux végétaux verts et en relation directe avec la

photosynthèse et font défaut dans les Champignons et dans les cellules animales.

Recherches personnelles

Nous avons personnellement examiné le mycélium des *Pythium* et aussi les organes sexuels de *P. deliense*, à l'aide de la méthode de Kolatchev, en suivant la technique de Bowen dans ses plus infimes détails et aussi en effectuant des colorations vitales au rouge neutre. Nous avons obtenu de bons résultats dans tous les cas. Avec l'acide osmique à 2% on réalise une coloration peu foncée. Quant à la température à laquelle le matériel doit être maintenu, qu'il s'agisse de 35 ou de 40°C, cela n'a pas paru avoir d'importance. D'ordinaire une imprégnation de 5 jours a semblé suffisante, les résultats étant comparables après 7 ou 8 jours, mais nous n'avons jamais excédé 10 jours.

Dans les organes sexuels, on rencontre des corps colorés en noir de forme et de taille diverses, nettement localisés dans les vacuoles incolores (Pl. XIV, fig. 9-11). Les images obtenues correspondent donc en tous points à celles que donne une coloration vitale par le rouge neutre. En deux endroits (pl. XIV, fig. 10 et 11), on pouvait voir le noyau dans l'oogone, mais il n'apparaissait pas en noir. Dans le cytoplasma des organes sexuels on ne distinguait généralement aucune autre structure.

Les mêmes aspects ont été retrouvés dans le mycélium des quatre Champignons étudiés (pl. XIV, fig. 10 et 15). Parfois aussi, (pl. XII, fig. 20) nous avons rencontré de petits anneaux dont le pourtour était coloré en noir, tandis que le centre demeurait incolore. Ces formations ressemblent aux plaquettes osmiophiles de BOWEN et de GATENBY. A d'autres endroits, on trouve des bâtonnets colorés en noir. Dans le même filament, mais de place en place seulement, ces deux sortes de formations se trouvent côte à côte avec de petits bâtonnets dont les extrémités se sont renflées ou vésiculisées. En examinant le chondriome de ces Champignons, nous avons obtenu des préparations comparables avec les méthodes mitochondriales et la coloration vitale (pl. XII, fig. 2, 13, 14 et 17). Il ne fait aucun doute qu'il s'agit de chondriosomes ayant subi des altérations. BOWEN (1929-30) a lui-même admis qu'en même temps que les plaquettes

osmophiles, on rencontre des structures noircies, dues à l'action d'agents inconnus. La véritable interprétation de ces structures, obtenues par les imprégnations osmique et argentique, a été donnée par GUILLIERMOND (1935) qui a montré que ces méthodes peuvent conserver les éléments du chondriome, soit normaux, soit altérés de diverses manières, le noyau et les chromosomes, tous prenant une teinte noire, et peuvent aussi noircir le système vacuolaire; qu'en outre elles peuvent déterminer d'autres modifications ou altérations.

Notons, en terminant, que nous avons réalisé, même après 8 jours, une excellente imprégnation du système vacuolaire qui, dans les organes sexuels, était seul coloré. Dans les hyphes, par contre, de place en place, des chondriosomes étaient, en outre, noircis, quelques-uns même étaient altérés; parfois enfin seul le chondriome était respecté. Ceci montre bien à quel point les imprégnations osmiques donnent des résultats irréguliers et que les méthodes golgiennes n'ont aucune spécificité.

Dans nos Champignons, par conséquent, il n'existe aucune formation, en dehors du chondriome et du système vacuolaire, qui puisse être rapportée à l'appareil de Golgi et nous faisons nôtres les conclusions tirées par GUILLIERMOND de ses récents travaux (1935).

CHAPITRE V. — DISCUSSION GÉNÉRALE

Avant d'exposer brièvement les principaux résultats auxquels nous sommes parvenu au cours de cette étude, nous voudrions discuter les opinions des cytologistes s'étant occupés des Champignons inférieurs et les confronter avec celles que nous avons acquises à la suite de nos recherches. Nous envisagerons ainsi successivement : le noyau au repos avec ses divers constituants morphologiques, les organes sexuels, leur formation, leur morphologie et leur cytologie.

1° Les noyaux au repos.

a) *Le nucléole.* — Il est incontestable que les noyaux des jeunes oogones sont légèrement plus grands et possèdent davantage de chromatine que ceux du mycélium végétatif. KING (1904, p. 217) avait exposé cette idée en ces termes à propos de *Arayospora pulchra* : « les noyaux végétatifs sont apparemment plus pauvres en chromatine car leurs nucléoles, invariablement, sont plus apparents que ceux des noyaux des zoosporanges ou des organes sexuels ». Dans les noyaux au repos du mycélium des 4 *Pythium* examinés, et aussi des organes sexuels, on rencontre toujours un énorme nucléole central qui se colore intensément. Parmi les autres auteurs qui se sont occupés de la cytologie des *Pythium*, seul EDSON (1915) a décrit un nucléole ; il dit, qu'à l'intérieur du présporange, on trouve un certain nombre de noyaux et que le noyau, à ce stade, est sphérique ou ovulaire, qu'il possède un nucléole unique généralement placé sur le côté, souvent même faisant hernie (pl. XLVI, fig. 1 à 8 de l'auteur). Parfois, spécialement dans les zoospores, le noyau renferme deux, voire trois nucléoles. Personnellement nous n'avons jamais

rencontré de noyau ayant cet aspect et pas davantage n'avons-nous vu plusieurs nucléoles à l'intérieur du noyau.

Chez *P. de Baryanum*, MIYAKE (1901) n'a pas constaté la présence de nucléoles, mais uniquement celle de granulations chromatiques apparentes, se transformant en un certain nombre de chromosomes au moment de la mitose. Cependant, chez le même objet, j'ai rencontré un nucléole nettement visible. D'autre part, chez *P. torulosum*, PATTERSON (1927) dénomme le corps rencontré au centre du noyau « masse chromatique ». L'opinion de TROW (1901), à propos de cet élément, est que le corps qui se colore intensément, et que l'on voit au centre du noyau, ne peut pas être considéré comme un simple nucléole. Il pense, en effet, que si ce corps devait être considéré comme un nucléole, ce serait alors un nucléole géant et il ajoute que si de tels éléments existaient chez les végétaux supérieurs, ils seraient fort intéressants à étudier, mais, en fait, il en a en vain cherché. Il poursuit en disant : ma conception actuelle au sujet de ce corps énigmatique, que je considérais provisoirement en 1895 comme un chromosome, peut être exprimée de la façon suivante. Il suffirait de se représenter un nucléole, de *Lis* par exemple, qui augmenterait considérablement de volume jusqu'à occuper la moitié de la cavité nucléaire et engloberait, sans les repousser, les granulations chromatiques éparses sur le réseau, ce dernier y compris. Par conséquent, pour cet auteur, le corps en question peut être considéré comme un nucléole augmenté d'une certaine portion de chromatine et non, de toute façon, comme un simple nucléole.

Mais on sait maintenant que, chez les végétaux supérieurs, lorsque le noyau est destiné à donner des chromosomes de petite taille, il possède un unique nucléole central et volumineux et, parmi les auteurs modernes, EICHORN (1933, 1933 a, 1934, 1934 a, 1934 b) a décrit chez de nombreux végétaux (*Cucurbitacées*, *Sinapis*, *Gossypium*, *Lathrea*) des aspects de ce genre et de même GHIMPU (1930) chez *Acacia*. Dès 1913, GUILLIERMOND s'exprimait ainsi à propos du noyau des Champignons : « Ce noyau présente les caractères des noyaux ordinaires des végétaux supérieurs. On y distingue un nucléoplasme incolore, limité par une membrane colorable, un nucléole et de la chromatine sous forme d'un fin réseau ou de petits grains très difficiles à mettre en évidence dans les cas où le noyau est très petit, comme cela arrive généralement dans le mycélium végétal ».

tatif». Ceci nous dispensera de citer les opinions d'autres auteurs antérieurs à 1913 ; disons simplement que tous ou presque tous, donnaient à ce corps le nom de nucléole et que, dès 1903, DAVIS réfutait les conclusions de TROW. Actuellement encore, on continue à le considérer comme étant un nucléole (CARLSON, 1929 ; COOPER, 1929 ; COUCH, 1932). On retiendra spécialement, parmi les auteurs modernes s'étant occupé du noyau des Champignons, SMITH (1923) qui a constaté l'existence d'une amitose pour les noyaux végétatifs de *Saprolegnia*. Cet auteur ne donne, toutefois, pas le nom de nucléole au corps placé au centre du noyau et dit : la masse centrale est composée surtout de chromatine et paraît être un nucléole. On peut la comparer à celle rencontrée dans les noyaux végétatifs de *Penicillium* et à laquelle GUEGEN (1898-99) a donné le nom mal défini de chromoblaste, ceci d'autant plus que le rôle de ce corps n'est pas connu jusqu'ici.

Récemment DANGEARD (1931) a décrit comme étant un nucléole le corps central de *P. muscae*. Ce corps central doit être appelé nucléole, conformément à l'opinion de la majorité des auteurs.

D'ailleurs, le rôle du nucléole n'est pas déterminé quant à présent. D'une façon générale, on n'admet pas sa participation, chez les Champignons, à la formation des chromosomes, sauf une minorité de chercheurs qui n'admettent pas que cet élément puisse être rejeté dans le cytoplasme (COUCH, 1932, p. 192).

Quant à son évolution chez *P. deliense*, on peut penser qu'il ne persiste pas au delà de la prophase. A ce stade il apparaît déjà localisé contre la membrane nucléaire et diminué de volume (pl. XIII, fig. 10) ; on perd toute trace de ce corps à la métaphase. A vrai dire, chez nombre d'autres Champignons, il persiste jusqu'à la fin de ce stade. Mais ici on peut admettre qu'il disparaît par dissolution au cours de la prophase.

b) *La membrane nucléaire*. — Suivant TROW (1901), le fuseau est intranucléaire chez *P. ultimum*, la membrane nucléaire étant visible jusqu'à la métaphase, mais ne pouvant être décelée au delà, tandis que MIYAKE (1901), chez *P. de Baryanum*, n'a pu la mettre en évidence qu'aux premiers stades de la division. Sans doute chez *P. deliense* et *P. torulosum* cette membrane disparaît-elle plus tôt que chez les deux autres espèces, soit à la fin de la prophase. De toute façon, après l'apparition du fuseau, nous n'avons jamais

pu la déceler. On voit combien les *Pythium* diffèrent, de ce point de vue, des autres Champignons. Dans un très grand nombre de cas, en effet, le fuseau en métaphase est nettement situé à l'intérieur d'une membrane (1).

Chez *P. deliense* la membrane nucléaire réapparaît à la télophase.

Chez aucune des espèces de *Pythium*, sauf *P. torulosum* il n'y a de centrosomes.

2° Les organes sexuels.

On sait que, dans tous les *Pythium* étudiés par nous, lorsque les organes sexuels ont atteint un degré de maturité suffisant, ils se séparent des hyphes qui les portent par une cloison transversale. Chez *P. torulosum*, PATTERSON (1927) a montré que cette séparation s'effectue lorsque les noyaux ont achevé leur division. Celle-ci est d'ailleurs unique. *P. aphanidermatum* fait exception, car (EDSON 1915) les noyaux, chez cette espèce, se divisent mitotiquement à l'intérieur du mycélium et passent ensuite à l'intérieur des organes sexuels où ils ne se divisent plus.

a) *Disposition des noyaux.* — Chez *P. ultimum*, de *Baryanum* et *torulosum*, les noyaux se rangent d'abord à la périphérie des organes, avant de se diviser. Chez *P. aphanidermatum*, ils prennent une position comparable, mais ils ne se divisent pas. Chez *P. deliense* étudié ici ils sont, par contre, répartis irrégulièrement dans le jeune oogone, et se divisent à ce moment. C'est après leur division seulement qu'ils sont repoussés vers la périphérie par les vacuoles néoformées. Cette disposition prise antérieurement à toute division rappelle les phénomènes rencontrés par KRUGER (1910) chez *Albugo candida*.

Au centre de l'oogone aucun noyau ne persiste chez *P. deliense*, *P. de Baryanum* ou *P. aphanidermatum*, mais chez *P. ultimum* et *P. torulosum* il en persiste un, qui se divise. Ceci a peu d'importance

(1) *Saprolegnia* (DAVIS, 1903-1905; CLAUSEN, 1908); *Achlya* (TROW, 1899; CARLSON, 1929); *Cystopus* (WAGER, 1896; STEVENS, 1899-1901; DAVIS, 1901); *Peronospora* (BERLESE, 1897; WAGER, 1900); *Phytophthora* (MURPHEY, 1918); *Leptolegnia* (COUCH, 1932).

en soi, car il n'y a finalement qu'un seul noyau femelle qui devienne fonctionnel (KRUGER, 1910).

Trow n'a jamais rencontré de vacuole centrale à aucun stade du développement de l'oogone et nous avons constaté qu'il en va de même chez *P. deliense*. Chez *P. torulosum*, avant la fécondation, l'ooplasme se vacuolise et une grande vacuole centrale apparaît. Chez *P. aphanidermatum*, EDSON a constaté la formation d'une cavité excentrique dans l'oogone de telle sorte que les noyaux sont repoussés vers la périphérie.

Chez *P. deliense* nous avons montré que les noyaux sont rejetés à la périphérie par suite de la formation, de la fusion et des mouvements des vacuoles et je pense que le même phénomène se produit chez *P. ultimum* et *P. de Baryanum*. De toute façon, l'on ne rencontre pas de grande vacuole centrale dans aucune de ces espèces, à aucun moment. Cette conclusion est, d'ailleurs, basée sur une étude à l'aide de colorations vitales au rouge neutre.

b) *Différenciation du protoplasma à l'intérieur de l'oogone en périplasma et ooplasme.* — Dans tous les cas examinés, cette différenciation s'opère à un stade assez avancé, d'une façon générale plus tardivement que chez *Cystopus* ou *Peronospora*, où elle a lieu juste au moment de la division des noyaux ou un peu auparavant. Chez tous les *Pythium* étudiés jusqu'ici, elle s'effectue après la mitose (MIYAKE, PATTERSON) ou après que les noyaux ont gagné la périphérie (TROW). Ce dernier auteur (1901) a constaté que, chez *P. ultimum*, la disposition des noyaux en un anneau annonce la division de l'oogone en ooplasme et périplasma. Chez *P. deliense* étudié par nous celle-ci n'a lieu qu'après la mitose et lorsque les noyaux ont pris leur position périphérique. EDSON, de son côté, ne fait pas mention de ces phénomènes.

Le périplasma dans toutes ces espèces est peu abondant et souvent difficile même à mettre en évidence. Quant à son rôle, il est très controversé, mais il est un fait certain, c'est que, y compris les noyaux qu'il englobe, il ne persiste pas bien longtemps et disparaît à peu près au moment de la fécondation.

c) *Le cœnocentre.* — La structure que nous venons de décrire chez *Pythium* a été vue pour la première fois en 1896 par WAGER chez *Cystopus candidus* où cet auteur a montré l'existence d'une

masse centrale dense, faite de protoplasma granuleux, nettement distincte à l'intérieur de l'oogone. En 1899, STEVENS chez *Cystopus Bliti*, a indiqué, au moment de la vacuolisation de l'oosphère, la formation d'un corps central homogène, constitué grâce à la condensation graduelle d'une masse de cytoplasme granuleux au centre, ou à peu près, de l'oosphère. Cette zone paraissait prendre une coloration plus intense que le cytoplasma environnant. On lui a donné le nom de *cœnocentre* et on lui a attribué un rôle attractif.

En 1900, WAGER, chez *Peronospora parasitica* a décrit les mêmes images. DAVIS, en 1903, a donné quelques détails au sujet de cette formation chez *Saprolegnia*. Il la considère comme une sorte d'aster et il voyait là « l'expression morphologique d'activités dynamiques ».

En 1904, Trow examinant *Achlya de Baryanum* critique les recherches de ses prédécesseurs sur ce sujet. Il décrit, dans l'oogone, des centrosomes, avec des asters, apparaissant au moment de la mitose et il pense que ce sont ces derniers que DAVIS a pris pour des cœnocentres. Lui-même, cependant, en 1901, dans une étude sur *P. ultimum*, avait décrit, au centre de l'œuf, une masse protoplasmique se colorant plus fortement que les autres parties de l'organe et l'avait dénommée cœnocentre, mais il avait indiqué expressément qu'il n'adoptait ce terme que pour la commodité de l'interprétation.

Postérieurement à ces travaux, il a été publié de nombreuses études contradictoires au sujet de la présence ou de l'absence de ce corps et aussi de son rôle. Nous n'en citerons encore que quelques exemples, en choisissant le genre *Achlya*. Trow (1904) ne rencontre pas de cœnocentre chez *A. de Baryanum*, mais indique la présence d'une autre formation : l'oocentre. COOPER (1929), chez *A. hypogyna*, voit bien un corps que l'on pourrait qualifier de cœnocentre, mais il note qu'il est assez rarement présent. CARLSON (1929) indique, de son côté, l'existence, chez *A. racemosa*, d'un corps colorable en noir et qui ressemble à des asters.

Le cas le plus intéressant est encore celui d'*Albugo candida*. En 1900, DAVIS et, en 1901, STEVENS, étudiant cette espèce, ont constaté l'existence d'un cœnocentre; par contre KRUGER, en 1910, ne trouve rien de comparable.

Chez *P. ultimum*, Trow (1901) a vu, dans l'œuf, une masse de

protoplasma se colorant plus intensément que les autres portions. MIYAKE (1901) chez *P. de Baryanum* n'a pas rencontré de parties différenciées dans le protoplasma. EDSON (1915) a vu, chez *P. aphanidermatum*, de même que TROW, une zone centrale qui se colore différemment du reste. Seul PATTERSON (1927) appelle cette zone cœnocentre chez *P. torulosum* (cf. MATTHEWS, 1931).

Chez *P. deliense* nous avons constaté que l'ooplasme se différencie en une plage offrant une coloration légèrement foncée, le *centralplasme* et une partie périphérique vacuolisée. Il est certain que l'on trouve dans les préparations mal différenciées une tache noire en relation avec le noyau femelle, au centre de l'organe, mais il ne faut voir là qu'un défaut de différenciation et un excès d'hématoxyline. Lorsque l'on applique la méthode de Kolatchev, et que l'on colore à l'érythrosine, un léger excès de colorant persiste toujours aussi sur le centralplasme. Quand le noyau femelle est sur le point de gagner le centre, il est évident que le protoplasme, dans le centralplasme, est plus dense et plus granuleux et ceci tient, d'après moi, à ce qu'il afflue en cet endroit des substances nutritives dissoutes destinées à nourrir le noyau femelle. Une coloration plus foncée apparaît alors en ce point et tranche sur la coloration plus pâle du cytoplasma environnant. Nous avons tenté de représenter ces différences dans nos dessins, mais nous tenons à préciser que le centralplasme n'apparaît pas en noir dans nos préparations.

Une question se pose, celle de savoir comment le noyau femelle gagne toujours, chez toutes les Saprologniales et les Pérénosporales étudiées de ce point de vue, la partie centrale. Une coloration vitale, chez *P. deliense*, montre l'apparition, la fusion et certains déplacements de vacuoles et il est vraisemblable que c'est à ces divers mouvements que l'on doit attribuer les changements de position du noyau femelle, de même que ceux des noyaux qui se déplacent vers la périphérie, à des stades antérieurs. EDSON déjà, écrivait de son côté : il paraît plus logique d'admettre que les mêmes forces qui amènent les vacuoles centrales à accumuler du protoplasme plus dense* continuent à agir et que l'accumulation d'un matériel plus dense, formant le corps qui rappelle un cœnocentre, le retour du noyau femelle et la marche du noyau mâle, tout comme l'accumulation ultérieure de substances nutritives au centre de la spore, ne sont que des manifestations de cette même force. COOPER (1929)

disait aussi : d'une observation continue de la formation des œufs, et du peu de fréquence d'apparition d'un cœnocentre, j'incline à penser que ce dernier n'est pas un agent actif. Mieux vaut chercher celui-ci dans la vacuole centrale. Je suis entièrement d'accord sur ces points avec ces auteurs.

J'ai indiqué déjà que certains attribuaient une force dynamique ou attractive au cœnocentre pour attirer les noyaux femelle et mâle (KING, 1904). On peut poser aux partisans de cette théorie la question suivante : comment se fait-il qu'au premier stade du développement les noyaux émigrent à la périphérie et à quelles forces obéissent-ils alors ?

MURPHY (1918), chez *Phytophthora*, n'a pas rencontré de cœnocentre nettement individualisé, mais simplement une masse irrégulière de cytoplasma légèrement plus dense qu'il dénomma « centralplasma ». Mais il ne l'a pas toujours trouvé. Chez *Peronospora*, WAGER (1900) et RUHLAND (1904) ont vu un cœnocentre, tandis que KRUGER (1910) n'a distingué qu'une petite masse irrégulière de cytoplasma parfois située au centre, et qu'il dénomma : *Zentralplasm*.

La vérité paraît être ceci : il existe généralement dans l'ooplasme une partie centrale qui se colore intensément et la dénomination qu'on lui attribue est bien indifférente, qu'il soit question d'un cœnocentre, d'un ovocentre, d'un centralplasma, etc. J'ai emprunté cette dernière appellation à MURPHY (1918) parce qu'elle indique la position de cette zone particulière de cytoplasma et ne comporte pas, à l'inverse des termes choisis par STEVENS, DAVIS, KING, etc., une idée sur son activité, activité que je ne lui reconnais du reste pas.

DAVIS pense que ce corps disparaît après la fécondation et ceci se conçoit. Lorsque le noyau femelle a été fécondé par le noyau mâle, le noyau de fécondation de l'oospore entre en repos et il s'accumule dans le cytoplasma, sous forme d'un globule de réserve, les éléments nécessaires pour l'entretien ultérieur du noyau et pour la germination des spores.

d) *Gonoplasme et périplasma dans l'anthéridie*. — Un autre point important réside en ceci qu'à l'intérieur de l'anthéridie, il n'y a pas différenciation du protoplasme en gonoplasme et périplasma,

chez *P. deliense* étudié ici, comme le pensait DE BARY et d'autres auteurs. Ceci vaut d'ailleurs pour les autres espèces étudiées jusqu'ici. Il est au surplus certain que tout le contenu de l'anthéridie ne passe pas dans le tube de fécondation jusqu'à l'intérieur de l'oosphère chez *P. deliense*. D'ordinaire, le contenu presque tout entier s'écoule et il n'en reste que très peu à l'intérieur de l'anthéridie vidée. Ce passage s'effectue rapidement et ne dure pas de toute façon de 1 à 2 heures comme l'a indiqué DE BARY.

e) *La membrane de l'oospore.* — La membrane de l'oospore est épaisse, ce qui est général chez les *Pythium*, moins toutefois que ne l'a indiqué MURPHY (1918) chez *Phytophthora erythroseptica*. Elle est constituée par deux couches ; l'une externe, connue sous le nom d'exospore et l'autre, plus épaisse, l'endospore.

f) *Le globule de réserve.* — Le globule de réserve est désigné comme de nature lipidique par MIYAKE, alors que TROW le considère comme un complexe d'huiles et de protides. Chez *P. deliense*, après la fécondation, il semble qu'il existe du glycogène à l'état diffus dans le cytoplasma. Il n'a pas été possible, toutefois, de préciser la nature chimique de ce corps dans ce Champignon.

3° Le chondriome.

Les éléments du chondriome ont été figurés uniquement chez *P. aphanidermatum* par EDSON, mais chez les espèces où je les ai étudiés ils ne sont pas aussi épais que ne l'a figuré EDSON. On en trouve toutefois de tels chez *P. de Baryanum* (pl. XIII, fig. 11) et qui ressemblent à quelques-uns de ceux rencontrés par GUILLIERMOND (1920 b) dans les Saprolégniacees et qu'il a décrit comme ayant l'aspect de fuseaux. Les chondriocontes chez ces Champignons ne sont pas généralement aussi allongés que chez *Saprolegnia* ou le *Penicillium glaucum* (GUILLIERMOND 1934 a). DANGEARD (1931) a indiqué que, chez *Pythium muscae*, les éléments du chondriome, qu'il appelle cytome, apparaissent le plus généralement sous forme de cytosomes sphériques, mais les aspects en bâtonnets courts paraissent plus nombreux que sur le vivant, comme si la fixation avait eu pour effet de produire l'étirement de quelques-uns d'entre eux, ce qui est en contradiction avec les données classiques. Les images

des cytosomes sphériques, représentées par DANGEARD, ressemblent exactement aux structures que j'ai obtenues dans les préparations du mycélium de ces Champignons et qui ont été décrites comme des altérations (cavulations) des chondriocotes. Il n'est donc pas douteux que les cytosomes sphériques décrits par DANGEARD ne sont, sur le vivant, autre chose que des chondriocotes altérés sous l'action de l'eau et que les bâtonnets observés après fixation correspondent, au contraire, à la forme réelle des chondriosomes.

4° Le système vacuolaire.

J'ai constaté que le rouge neutre à faible dose n'est pas toxique pour ces Champignons qui continuent à croître et à donner des organes sexués lorsque le colorant est ajouté aux milieux. Le système vacuolaire se colore pendant le développement des Champignons. Les précipités intra-vacuolaires ne sont pas constitués par de la métachromatine. A hautes doses le rouge neutre devient toxique et retarde le développement. Ces faits concordent avec ce qu'a indiqué GUILLIERMOND à propos de *Saprolegnia* (1929 a, 1930 b et c).

CHAPITRE VI. — POSITION SYSTÉMATIQUE
DE QUELQUES ESPÈCES DU GENRE *PYTHIUM*
D'APRÈS LES DONNÉES CYTOLOGIQUES.

Parmi les 5 Champignons sur lesquels ont porté notre discussion *P. aphanidermatum* et *P. deliense* paraissent moins évolués que *P. ultimum*, de *Baryanum* et *torulosum*, me semble-t-il. Chez les deux premiers la division nucléaire s'opère avant que les noyaux ne se disposent à la périphérie de l'oogone, alors que, chez les trois derniers, la mitose ne commence d'ordinaire qu'après que cette disposition a été prise.

1° Chez *P. aphanidermatum*, la mitose qui, chez les autres types, s'opère à l'intérieur des organes sexuels, s'effectue dans le mycélium avant que les noyaux émigrent dans ces organes. Chez *P. deliense*, bien que les noyaux se divisent, avant la fécondation, à l'intérieur des organes sexuels, ils ne se rangent pas en un cercle vers la périphérie au moment de cette division. Ils demeurent irrégulièrement répartis dans le cytoplasma du jeune oogone et c'est dans cette position qu'ils se divisent. Il semble que le fait qu'une division nucléaire ait lieu à l'intérieur des organes sexuels et non plus dans les organes végétatifs exclusivement, comme chez *P. aphanidermatum*, puisse être regardé comme un progrès sur les conditions rencontrées chez celui-ci et que, pour cette raison, *P. deliense* doive être considéré comme plus évolué. Morphologiquement du reste ceci est vrai aussi, car, chez *P. aphanidermatum*, les sporanges filamenteux sont digités, lobés et d'une longueur de 50 à plus de 1.000 μ . Chez *P. deliense*, par contre, les sporanges sont d'ordinaire filamenteux et atteignent jusqu'à 210 μ de long, mais leur formation, comme celle des oospores, n'est pas habituelle, puisque la reproduction sexuelle prédomine.

SIDERIS (1931) désigne *P. aphanidermatum* sous le nom de *Nematosporangium aphanidermatum* et sa section *Oligandra* se subdivise de la façon suivante :

Oligandra :

a) *Plethorocomba*, nombreuses plasmatoogoses, donnant des zoospores dans l'eau, indiquant que ce sont des organismes hydrobiotiques.

1. *N. aphanidermatum*.

2. *N. aphanidermatum* var. *hawaiiensis*.

3. *N. Butleri*.

b) *Oligocomba*, peu de plasmatoogoses donnant rarement des zoospores, ce qui indique leur nature aérienne ou terrestre.

1. *N. indigoferae*.

De plus, les espèces de la section *Oligocomba* donnent des oospores plus abondamment que celles de la section *Plethocomba*. *P. deliense* (*Nematosporangium deliense* d'après SIDERIS) produit également un grand nombre d'oospores. Les zoospores sont rares. Aussi d'après SIDERIS devrait-on ranger cette espèce dans la section *Oligocomba*, près de *N. indigoferae*. MEURS (1934) a, de son côté, émis l'idée que *P. deliense* serait très proche de *P. indigoferae*. Il n'est pas douteux que cette dernière espèce est, de toute façon, plus évoluée que *P. deliense*, car elle est épiphyte (BUTLER, 1907).

D'après SIDERIS également, *N. aphanidermatum* est plus primitif.

Par contre, dans les trois autres cas (*P. ultimum*, *P. de Baryanum* et *P. torulosum*), les noyaux, d'ordinaire, se disposent plus ou moins en un anneau auprès de la périphérie et ensuite se divisent.

Nos conclusions à savoir que *P. aphanidermatum* et *P. deliense* sont moins évolués que les trois autres *Pythium* sont confirmées par des caractères morphologiques. Le genre *Pythium* (BUTLER, 1907, FITZPATRICK, 1930) est généralement subdivisé en deux sous-genres : *Aphragmium*, dans lequel les sporanges sont filamenteux et souvent digités et *Spherosporangium* où les sporanges sont généralement sphériques ou ovoïdes. *P. aphanidermatum* qui possède des sporanges filamenteux digités rentre dans le premier sous-genre. *P. deliense* devrait y être compris aussi, en raison de ses sporanges généralement filamenteux, à côté de *P. indigoferae* que l'on range

dans le sous genre *Aphragmium*. Les trois autres espèces : *ultimum*, *de Baryanum* et *torulosum* sont placées dans le sous-genre *Sphaerosporangium* dont l'évolution est plus avancée que pour *Aphragmium*.

2° *P. torulosum* paraît être, du point de vue cytologique, plus primitif que les deux autres (*P. de Baryanum* et *P. ultimum*). Les cloisons délimitant les organes sexuels apparaissent très tardivement. « Dans l'ébauche de l'oogone tous les noyaux, sauf un qui demeure au centre, se rangent en cercle, après quoi tous se divisent. Une division simultanée s'effectue dans l'ébauche d'anthéridie. Aussitôt après cette mitose des cloisons apparaissent qui délimitent les organes sexués » (MATTHEWS, 1931). Cette formation tardive représente, sans aucun doute, un caractère primitif.

Au sujet de *P. de Baryanum*, MIYAKE (1901) écrit : « tandis que les noyaux se rangent à la périphérie de l'oogone, la partie centrale se vacuolise plus ou moins. Après la division des noyaux, le contenu protoplasmique tout entier se différencie en ooplasme et périplasme ». Et plus loin : « bientôt après le passage du contenu de l'anthéridie à l'intérieur de l'oosphère une mince membrane entoure celle-ci... à ce stade seulement une faible portion de protoplasme demeure encore dans le périplasme ». Au sujet de *P. ultimum*, TROW (1901) montre que l'arrangement des noyaux en un cercle annonce la différenciation du contenu de l'oogone en ooplasme et périplasme. Il convient de noter qu'à ce moment les noyaux ne se sont pas divisés. Cet auteur parle de la mitose un peu plus loin : dans la figure IX, la formation de l'œuf a commencé, le tube de fécondation est au contact d'un protoplasma dense et la disposition annulaire des noyaux est très caractéristique. Ces noyaux sont en métaphase. D'après la description qu'il nous donne du périplasme, il semble que celui-ci persiste plus longtemps que chez *P. de Baryanum*, il dit, en effet : « tout le périplasme est digéré et absorbé par la jeune oospore, qui augmente alors considérablement de taille ».

On voit par tout ce qui précède que, chez *P. de Baryanum*, comme aussi chez *P. torulosum*, la différenciation du protoplasme de l'oogone en périplasme et ooplasme s'effectue après la division des noyaux, différenciation qui a lieu plus tardivement que chez *P. ultimum*. Un second point à noter est celui-ci : chez *P. de Baryanum*, le périplasme ne persiste pas aussi longtemps que chez

P. ultimum. En conséquence, *P. de Baryanum* apparaît, cytologiquement, plus primitif que *P. ultimum*. Il n'en reste pas moins vrai que, morphologiquement, *P. ultimum* paraît plus évolué ; il ne présente plus en effet de sporanges et de zoospores et BUTLER (1907) le place après *P. de Baryanum*.

Sans doute pour asseoir de telles conclusions, des recherches complémentaires devront-elles être entreprises sur d'autres espèces de *Pythium*.

MURPHY (1918) a suggéré l'idée que la différenciation en ooplasme et périplasme avant la fécondation s'effectuerait dans l'ordre ascendant suivant : *Pythium*, *Phytophthora*, *Sclerospora*, *Plasmopara*, mais il n'est pas aussi bien établi que pour *Peronospora*. Le travail de l'auteur, et celui plus récent de PATTERSON (1927), apporterait une confirmation de ces idées quant aux *Pythium*. Chez tous, le périplasme paraît être peu important et ne persiste pas longtemps, de même qu'il n'est pas très dense. Au sujet de *P. aphanidermatum*, EDSON (1915) ne dit rien sur ce point, mais dans ses figures 1, 2, 5 de la planche XLVII, la différenciation du contenu de l'oogone en périplasme et ooplasme est visible et le périplasme semble abondant. Chez *P. aphanidermatum* (EDSON, 1915), les noyaux se divisent très tôt, c'est-à-dire dans les hyphes parents, avant que les noyaux ne se soient disposés en un anneau vers la périphérie de l'oogone. Chez *P. deliense*, les noyaux se divisent d'abord et n'émigrent qu'ensuite à la périphérie, tandis que chez *P. de Baryanum* et *P. torulosum* ils se portent à la périphérie et se divisent. Lorsque ces stades ont été atteints le protoplasme de l'oogone se différencie en ooplasme et périplasme. Chez *Cystopus* et *Peronospora* cette différenciation du protoplasme s'effectue un peu plus tôt que chez *Pythium* ; elle a lieu à peu près au moment de la division nucléaire ou un peu avant et l'on rencontre une masse de périplasme dense plus abondante que chez *Pythium*. Cytologiquement *Pythium* diffère de *Cystopus* et de *Peronospora*, d'une part en raison de cette différenciation plus tardive et, d'autre part, quant à la quantité de périplasme éphémère. Par contre, ce genre paraît plus étroitement apparenté aux *Phytophthora*, *Sclerospora* et *Plasmopara* que ne l'indique MURPHY.

NOMENCLATURE DE P. DELIENSE

On s'est efforcé autrefois de scinder le genre *Pythium* et l'on trouve une excellente discussion de ces questions chez BUTLER (1907), FITZPATRICK (1930) et chez MATTHEWS (1931). SCHROTER (1897) et, plus récemment, SIDERIS (1929-1932) ont plaidé en faveur de l'élévation au rang de genre du sous-genre *Nematosporangium* ; mais BUTLER (1907), DRECHSLER (1930), MATTHEWS (1931) et SPARROW (1931, 1932) ne sont pas de cet avis.

En 1931, SIDERIS divise le genre *Pythium* (BUTLER, 1907) en : *Nematosporangium* où les présporangies ne sont pas des structures nettement définies et en *Pythium* où les présporangies sont nets, pythioïdes, sphériques ou ovoïdes. Mais en 1932, il écrit (p. 21) « la définition des *Pythium*, d'après laquelle seuls des organismes, possédant des présporangies pythioïdes, devraient être rangés dans le genre *Pythium*, toute parfaite qu'elle soit, est trop générale et demande quelques modifications eu égard à ces organismes dont le stade présporangial, ou mieux zoosporangial, n'a jamais été observé ». On voit ainsi que cet auteur manifeste quelques hésitations au sujet de la définition même du genre *Pythium*, telle qu'il l'a proposée.

D'autre part SPARROW (1931, 1932) voudrait scinder le genre *Pythium* (BUTLER 1907) en : *Pythium*, *Rheosporangium* et *Sphaerosporangium*. Mais il existe de nombreux rapports entre ces trois genres comme l'a indiqué MATTHEWS (1931). MEURS (1934) souligne que *Pythium myriotylum* Drechsler est un nouvel exemple de forme intermédiaire ; ce Champignon étant capable de donner aussi bien des sporangies filamenteux que des sporangies lobés et si les organes que j'ai décrits chez *P. deliense* (pl. I, fig. 12) sont démontrés être bien des sporangies, cette espèce pourra être considérée comme transitoire, au même titre que *P. myriotylum*.

Aussi MEURS (1934) a-t-il eu raison de donner le nom de *Pythium deliense* à cette nouvelle espèce au lieu de celui de *Nematosporangium deliense*. A son avis, cette espèce avait été auparavant considérée comme étant probablement *P. de Baryanum* (JOCHEMS, 1927) et sans doute *Phytophthora Nicotianae* Br. de Haan était-il contaminé par *P. deliense* (BREDÁ DE HAAN 1896). Il écrit à ce sujet « de nombreux chercheurs (E. G. ASBY, 1928) ont admis que BREDÁ DE HAAN n'a pas eu recours à des cultures pures ».

CONCLUSIONS

Au cours de ce travail qui comprend deux parties, je me suis proposé d'étudier d'une part les conditions de croissance des *Pythium*, d'autre part la cytologie de ces Champignons. Je me suis adressé pour cela aux espèces suivantes : *Pythium deliense* Meurs, *P. de Baryanum*, *P. mamillatum* Meurs et *P. indigoferae* Butler, mais plus spécialement toutefois au premier.

1° *P. deliense* a été cultivé sur 65 milieux, solides ou liquides, fort variés, tels que extraits de graines ou de fruits additionnés de gélose, sur des fragments de racines, de tiges, de bourgeons, de feuilles, de fruits, de plantules ou sur des Fourmis et des Scolopendres. Les trois autres Champignons ont été cultivés sur 12 à 18 milieux différents, déjà utilisés, pour la plupart, pour le précédent. Dans la nature, les trois premières espèces sont parasites sur des végétaux et la quatrième est épiphyte, mais les expériences de culture ont permis de se rendre compte que tous quatre peuvent vivre en saprophytes sur divers milieux. Tous quatre sont capables de donner des organes sexuels sur un milieu de farine de Maïs-agar et carotte. Une solution peptonée à 1% est, d'autre part, favorable à leur développement végétatif.

2° Sur milieux solides, dans tous les cas, un certain nombre d'hyphes végètent à l'intérieur du milieu, mais la plus grande partie du mycélium s'étale à la surface et est souvent aussi aérienne. Les organes sexuels peuvent apparaître sur l'une ou l'autre partie.

3° La vitesse comparée de croissance a été évaluée sur agar-farine de Maïs à 20°, 25°, 30°, 35°C. A 20°C, *Pythium indigoferae* se développe le moins bien, alors que *P. de Baryanum* se développe le mieux, les deux autres présentant un développement comparable

entre eux et sensiblement intermédiaire entre celui des deux précédents. A 25°C, *P. deliense* prospère davantage que *P. mamillatum* et les quatre espèces se rangent dans l'ordre suivant, quant à leur croissance : *P. indigoferae*, *P. mamillatum*, *P. deliense* et *P. de Baryanum*. A 30°C, *P. deliense* dépasse même *P. de Baryanum*. C'est à cette température que ces Champignons offrent leur croissance maximale (sauf *deliense*).

4° Pour *P. deliense* les températures minima et optima sont respectivement 10° et 35°C, la température maximale étant aux environs de 40-45°C. Il s'agit en effet d'un Champignon d'origine tropicale. Ce Champignon ne périt pas aux températures inférieures à 10°C, il végète simplement, mais reprend aussitôt son développement dès qu'il est replacé dans des conditions favorables. Par contre, il meurt à 45°C après 24 heures.

5° Pour *P. deliense*, les nitrates ne peuvent servir de source d'azote, mais on peut employer NH_3 à cette fin. Les sulfates peuvent servir de source de S. En l'absence de source de N, la croissance est nulle et sans S, est moins bonne. La peptone constitue un aliment complet pour ces Champignons et peut assurer la nutrition carbonée. On peut, en conséquence, et suivant la nomenclature de LWOFF et VOLKONSKY, considérer *P. deliense* comme *haplomésotrophe N* et *euthiotrophe*.

6° Une forte teneur du milieu en glucose ou maltose (10% ajoutés à un milieu peptoné à 1%) retarde la croissance de *P. deliense*. Le rouge neutre, ajouté à ce milieu à forte dose agit de même. Il n'y a plus de croissance dans les milieux acidifiés avec de l'acide tannique (0.5%). Par contre l'huile de foie de Morue agit favorablement sur le développement, cependant que l'extrait de malt, à doses un peu élevées, le retarde.

7° Sur agar-farine de Maïs (acidifié par une solution d'HCl), la croissance est minima à pH 2.9 ; elle augmente à mesure que l'acidité décroît jusqu'à pH 5 où elle est maximale, puis diminue jusqu'à ce que le pH atteigne la neutralité. Sur milieux alcalinisés par une solution de Na_2CO_3 , la croissance est maximale à pH 9 ; si l'alcalinité augmente encore elle diminue, pour cesser à pH 10.6. Il y a donc deux maxima, l'un du côté acide, l'autre du côté alcalin, celui-

ci étant plus élevé que l'autre. Entre ces deux maxima, il existe un minimum, à pH 7. *P. deliense* ne se développe pas sur le fruit de *Averrhoa corambola*, dont le pH est précisément de 2.1. Ce Champignon exige pour son développement maximum un milieu légèrement acide ou alcalin, une acidité ou alcalinité trop forte nuit à sa croissance.

8° A 30°C, sur agar-farine de Maïs, les organes sexuels de *P. deliense* apparaissent en 12-18 heures; ceux de *P. mamillatum* en 48 heures; ceux de *P. de Baryanum*, en 72 heures et, enfin, ceux de *P. indigoferae*, en 96 heures. A basse, comme à haute température, la formation de ces organes est empêchée, par exemple: à 10, 15, 38 et 40°, il n'apparaît pas d'organes sexuels chez *P. deliense*. La lumière et l'obscurité n'empêchent pas l'apparition de ces organes dans le cas des quatre Champignons étudiés. Par contre, la présence d'oxygène est indispensable.

9° Dans la plus grande partie des milieux sur lesquels *P. deliense* a été cultivé, il s'est formé des organes sexuels. Sur les solutions peptonées cependant il n'en a pas été obtenu. De plus, si l'on ajoute une solution de peptone à une concentration supérieure à 0.3% à un milieu à l'agar pur, la formation des organes sexuels est ou retardée ou même arrêtée. Un extrait de malt d'Orge retarde également cette formation, tandis que l'huile de foie de Morue l'accélère. En l'absence de source de NH_3 le même phénomène est ralenti.

10° Les solutions peptonées sont hydrolysées par toutes les espèces étudiées. Mais jamais il n'est apparu d'acide oxalique lors de cette hydrolyse. Avec *P. deliense*, *de Baryanum* et *mamillatum* il se forme une assez forte quantité d'ammoniaque à partir de la peptone, et la solution devient alcaline et si le pH initial est à 5, après 21 jours à 30°C, le pH final est respectivement dans les trois cas de 8.30, 7.92 et 7.88. L'hydrolyse est moindre avec le quatrième Champignon et le pH final, même après 21 jours, est encore à 6.01, car il y a production réduite d'ammoniaque. A cet égard, ce Champignon ressemble à *Penicillium glaucum*.

Ces *Pythium* ne peuvent hydrolyser le saccharose, mais ils hydrolysent l'amidon soluble. L'intensité de cette réaction est du même ordre que pour la peptone. Il y a sécrétion, par les Cham-

pignons, de diastases, mais jamais d'invertase. Celles de *P. deliense* ont été extraites.

Le degré de rapidité d'hydrolyse de l'amidon sur milieux solides a été étudié à 20, 25, 30, 35, 40 et 45°C pour les quatre espèces. Les résultats confirment ceux obtenus sur milieux liquides.

11° *P. deliense* ne forme d'ordinaire pas de sporanges en cultures. Leur développement a été provoqué et étudié en détail, de même que celui des zoospores. Les noyaux, leur système vacuolaire comme leur chondriome sont identiques à ceux du mycélium.

12° La cytologie de ces *Pythium* a été étudiée. Par une double coloration au rouge neutre et au vert Janus il a été possible de mettre en évidence à la fois le système vacuolaire et le chondriome. Grâce à la coloration vitale et *intra vitam* il a été possible d'étudier l'évolution du système vacuolaire depuis les toutes jeunes vacuoles jusqu'à la formation des canaux vacuolaires. Le contenu des vacuoles, comme les précipités intra-vacuolaires, ont été examinés. Contrairement à ce qui a été admis jusqu'ici pour les Champignons, il n'y a pas de métachromatine dans les vacuoles des *Pythium*.

13° Une étude vitale du chondriome a été poursuivie de la même façon, puis aussi après fixation. On a toujours constaté que le protoplasma réduisait le vert Janus, ce qui rend, en conséquence, son étude difficile. Le chondriome est formé par des chondriocontes et des mitochondries granuleuses. Par places, le chondriome apparaît cavulé. Le liquide de Helly a paru donner les meilleurs résultats en vue de la fixation. Contrairement à ce que l'on sait à propos des autres Champignons, les fixateurs renfermant de l'alcool, de l'acide acétique ou du formol sont capables de conserver les éléments du chondriome. Un tel fait n'était connu jusqu'ici que de *Saprolegnia*. A la température de 45-50°C le chondriome ne disparaît pas, mais il est généralement altéré (vésiculisation). Le protoplasme de nos Champignons a le pouvoir de réduire le vert Janus.

14° Après de nombreux essais avec des fixateurs très divers, il a été possible d'obtenir des images satisfaisantes du noyau. La solution de Flemming faible est ici le meilleur fixateur. Dans tous les noyaux au repos on rencontre une membrane et un nucléole central, de grande taille, fortement chromatique. Ce corps est relié

par de fins filaments à la membrane. Contre celle-ci on distingue parfois des granulations chromatiques qui se retrouvent aussi sur le réseau. La mitose est une mitose typique.

15° On a pu constater, par l'utilisation de procédés microchimiques, que la membrane de ces Champignons renfermait de la chitine et décèler dans le cytoplasme des globules gras.

16° Une étude du développement des organes sexuels de *P. deliense*, de leur système vacuolaire, de leur chondriome et enfin de la fécondation a été entreprise.

L'anthéridie est polynucléée ; les noyaux se divisent mitotiquement. Tous dégèrent finalement avant la fécondation, sauf un. Il n'y a pas différenciation du protoplasme en gonoplasme et périplasme. Le chondriome de l'anthéridie, comme de l'oogone, est identique à celui du mycélium. On voit, dans le jeune oogone, de nombreux noyaux épars qui subissent une division mitotique. Tous gagnent la périphérie et le protoplasme se différencie en périplasme et ooplasme. L'un des noyaux périphériques gagne le centre de l'ooplasme, tandis que les autres dégèrent dans le périplasme peu abondant. Le noyau mâle et la plus grande partie du protoplasme de l'anthéridie parviennent, à travers un tube de fécondation, jusqu'à l'ooplasme et, finalement, le noyau mâle s'unit au noyau femelle. On ne rencontre jamais de grande vacuole centrale à l'intérieur de l'oogone. Une membrane épaisse apparaît progressivement autour de l'oospore ; elle est faite probablement de chitine.

Après la prophase, la membrane nucléaire se dissout et disparaît. Il n'existe ni centrosome, ni « cœnocentre » organisé chez le *P. deliense*.

Les particules nutritives du jeune oogone sont représentées par des granulations lipidiques. A peu près à l'époque de la fécondation, on note la présence de glycogène à l'état diffus dans le protoplasma. On constate l'existence d'un corps de réserve dans l'oospore à maturité, mais il n'a pas été possible de préciser sa nature chimique.

17° La méthode de Kolatchev a été suivie dans ses plus minutieux détails et appliquée à l'étude du mycélium des quatre espèces de *Pythium* et à celle des organes sexuels de *P. deliense* en vue de mettre en évidence les plaquettes osmiophiles décrites par BOWEN,

et qui sont, d'après lui, les homologues de l'appareil de Golgi des cellules animales. A l'intérieur des vacuoles incolores on a rencontré des corps se colorant intensément en noir, de forme et de taille variables, qui ne sont autre chose que les corpuscules intra-vacuolaires précipités. Les corps rencontrés dans le cytoplasma sont simplement des éléments du chondriome ayant subi des altérations par suite de l'imprégnation osmique. Il n'existe aucune formation, en dehors du chondriome et du système vacuolaire, qui puisse être rapportée à l'appareil de Golgi.

18° *P. deliense* enfin a été comparé en se basant sur l'oogénèse à *P. aphanidermatum*, *P. torulosum*, *P. de Baryanum* et *P. ultimum*. et de cette comparaison il résulte que l'on peut classer ces espèces dans l'ordre d'évolution ascendante suivante : *P. aphanidermatum*, *P. deliense*, *P. torulosum*, *P. de Baryanum* et *P. ultimum*.

EXPLICATIONS DES PLANCHES

A = Anthéridie ; B = Bourgeon ; C = Cil ; Cc = Chondriocente ; Cg = Mitochondries gonflées ; Cm = mitochondrie granuleuse ; Cp = « central-plasm » ; Cr = Corps réfringent ; Cyt = Cytoplasme ; Ex = Exospore ; En = Endospore ; Ft = Tube de fécondation ; Grg. = granulation lipidique ; Ic = Corpuscule intravacuolaire ; K = protubérance ; M = Membrane ; Mo = Membrane de l'oospore (Parois) ; N = Noyau ; Nc = Nucléole ; Nf = Noyau fécondé ; Nm = Membrane nucléaire ; O = Oogone ; Oo = Ooplasme ; Os = Oospore ; Osp = Oosphère ; P = Périplasme ; Rg = Globule de réserve ; S = Sporange ; T = Tube de décharge ; V = Vacuole ; Vc = Canal vacuolaire ; Ves = Vésicule ; Vs = Vésicule mitochondriale ; Z = Zoospore.

Au clichage, les figures des planches I à VI ont toutes été réduites de 1/4 environ.

PLANCHE XI

Pythium deliense

- Fig. 1. — Sporange terminal avec contenu granuleux. *In vivo* ($\times 500$).
 Fig. 2. — Sporange terminal montrant le tube de décharge filamenteux se terminant en une vésicule dans laquelle le protoplasme s'est accumulé. *In vivo* ($\times 500$).
 Fig. 3. — La vésicule vue un peu plus tard ($\times 800$). Le protoplasme s'est détaché de la membrane et a pris une forme sphérique.
 Fig. 4. — Vésicule dans laquelle les zoospores ont été formées. Chaque zoospore porte 2 cils. *In vivo* ($\times 800$).
 Fig. 5. — Vésicule un peu plus grossie. Chaque zoospore est animée de mouvements de nage rapides. *In vivo*.
 Fig. 6. — Zoospores réniformes. *In vivo*.
 Fig. 7. — Sporange, coloré vitalement par le rouge neutre, montrant son système vacuolaire ($\times 700$). *In vivo*.
 Fig. 8. — Sporange fixé suivant la méthode de Helly et coloré par l'hématoxyline ferrique, montrant son système vacuolaire, les noyaux, les chondriocentes, les mitochondries granuleuses et le cytoplasme.
 Fig. 9 et 10. — Formations ressemblant à des sporanges intercalaires qui n'ont pas germé; fixées dans la solution de Flemming faible et colorées par l'hématoxyline ferrique.
 Fig. 11 et 12. — Formations lobulaires terminales ressemblant à des sporanges ; *In vivo* ($\times 700$).

Fig. 13. — Sporange terminal *in vivo* donnant naissance à un tube de décharge qui a cessé de croître.

Fig. 14. — *a, b, c*, Tubes terminaux analogues à des tubes de décharge s'étant développés anormalement, vus à des stades différents; ils ne forment pas de vésicules. *In vivo*.

PLANCHE XII

Pythium deliense

Fig. 1. — ($\times 2000$); fig. 18 (1/2 grandeur nature); Fig. 19 ($\times 120$). Les autres figures sont grossies environ 3.000 fois. Les granulations lipidiques et les chondriosomes ne sont pas représentés dans les figures 3 à 12, 15 et 16.

Fig. 1. — Filament montrant des vacuoles, des granulations lipidiques et le cytoplasme (sans coloration). Le chondriome n'est pas visible.

Fig. 2. — Filament coloré vitalement avec du vert Janus. Le chondriome est visible.

Fig. 3. — Filament vivant montrant de petites vacuoles qui fusionnent pour en donner de plus grandes. Coloration vitale au rouge neutre.

Fig. 4. — Syst. vacuol. *in vivo* sous forme de réseau et de canalicules.

Fig. 5, 6, 7 et 11. — Filaments colorés vitalement avec le rouge neutre montrant les différents aspects des corpuscules intravacuolaires. Sur la fig. 11 on voit un corpuscule intravacuolaire qui a été expulsé dans le cytoplasme, ce qui a rarement lieu.

Fig. 8, 9 et 10. — Filaments colorés vitalement par une solution légèrement concentrée de rouge neutre. Le contenu vacuolaire est d'abord précipité sous forme de corpuscules de formes variées et les vacuoles restent pendant quelque temps non colorées. Dans la fig. 2, le colorant diffuse de la périphérie vers l'intérieur de la vacuole.

Fig. 12, 15 et 16. — Filaments ayant poussé sur des milieux additionnés de rouge neutre. Sur la fig. 12, la teinte du rouge neutre dans le canal vacuolaire est devenue faible. Sur les figures 15 et 16, les vacuoles sont incolores et contiennent des corpuscules intravacuolaires colorés.

Fig. 13 et 14. — Filaments ayant poussé sur des milieux additionnés de rouge neutre et colorés ensuite vitalement avec du vert Janus.

Fig. 17. — Filament vivant traité par le violet Dahlia. Les chondriosomes sont tous vésiculés.

Fig. 18. — Culture du mycélium à la surface de la peptone liquide en forme de disque feutré épais et gélatineux.

Fig. 19. — Excroissances de mycélium en forme de bourgeons produites dans les cultures sur gélose à 2 % d'extrait de malt.

Fig. 20. — Filaments (traités par la méthode de Kolatchev, 8 jours) montrant la vésiculation des éléments du chondriome et aussi de petits chondriocentes normaux.

PLANCHE XIII

Préparations colorées à l'hématoxyline ferrique

Pythium deliense

- Fig. 1 à 4. — Filaments montrant les éléments du chondriome ; les vacuoles et les noyaux. Fig. 1 : filament fixé par le liquide de Helly ($\times 1.800$). Fig. 2 : *idem* ($\times 3.000$). Fig. 3 : filament fixé par le liquide de Regaud ($\times 2.300$). Fig. 4 : filament obtenu sur Pomme de terre, fixé par le liquide de Regaud-Tupa ($\times 2.000$).
- Fig. 5. — Filament fixé dans le liquide de Helly. On voit la plupart des mitochondries granuleuses et quelques-unes en bâtonnets ($\times 2.000$).
- Fig. 6. — Filament fixé dans le liquide de Helly montrant les éléments du chondriome ($\times 2.000$).
- Fig. 7. — Filament cultivé à 45° - 50°C pendant $1/2$ heure environ puis fixé au sublimé-formol. On voit les mitochondries à des stades variés de vésiculation. Toutes ne sont pas altérées ($\times 2.000$).
- Fig. 8. — Filament fixé au liquide de Helly. Les vacuoles sont visibles ($\times 2.000$).
- Fig. 9. — Noyau au repos montrant un gros nucléole, des trabécules de limine et des granules de chromatine ($\times 4.800$).
- Fig. 10. — Filament fixé dans la solution de Flemming faible. On voit les noyaux à différents stades de division. *t* = télophase ; *p* = stade de spirème (prophase) ; *m* = métaphase ($\times 2.000$).

Pythium de Baryanum.

- Fig. 11 et 12. — Filaments fixés au liquide de Helly montrant les éléments du chondriome, les vacuoles et les noyaux. Fig. 11 ($\times 2.300$). Fig. 12 ($\times 2.000$).
- Fig. 13. — Filament sans coloration, montrant les vacuoles et les granulations lipidiques ($\times 2.000$).
- Fig. 14. — Filament poussé sur milieu additionné de rouge neutre. La coloration du canal vacuolaire est devenue faible ($\times 2.000$).

Pythium mamillatum

- Fig. 15. — Filament fixé dans la solution de Flemming faible. Le cytoplasme n'est pas continu ($\times 1.200$).
- Fig. 16. — Filament fixé dans le liquide de Helly montrant les éléments du chondriome et les noyaux. *m* = métaphase ; *t* = télophase ($\times 2.800$).

Pythium indigoferae

- Fig. 17 à 19. — Filaments montrant les éléments du chondriome, les noyaux et les vacuoles. Fig. 17 : filament fixé par le liquide de Regaud ($\times 2.000$). Fig. 18 et 19 : Filaments fixés par le liquide de Helly ($\times 2.800$).
- Fig. 20. — Filament coloré vitalement par le rouge neutre. De petites vacuoles fusionnent pour en donner de plus grandes ($\times 2.800$).

Fig. 21. — Filament poussé sur milieu additionné de rouge neutre. La coloration du canal vacuolaire est devenue faible, des précipités en forme de croissants, d'*x*, etc., sont visibles ($\times 2.800$).

PLANCHE XIV

Pythium deliense.

Pour la clarté des figures, les granulations lipidiques n'ont généralement pas été dessinées.

Fig. 1. — Oogone et anthéridie portées par le même filament ($\times 1.200$).

Fig. 2. — Oogone avec une oospore et une anthéridie intercalaire, position la plus fréquente chez ce *Champignon* ($\times 1.000$).

Fig. 3. — Oogone avec une anthéridie. Ooplasme à bords légèrement irréguliers ($\times 1.200$).

Fig. 4. — Jeune oogone coloré par le rouge neutre. Vacuoles fortement colorées. ($\times 1.450$).

Fig. 5. — Oogone un peu plus âgé coloré par le rouge neutre. Le contenu de l'oogone s'est différencié en périplasme et ooplasme. Il y a de petites vacuoles dans le périplasme et de grandes dans l'ooplasme ($\times 1.450$).

Fig. 6. — Oogone avec spore à demi mûre, traité par le rouge neutre. Deux grandes vacuoles contenant des corpuscules intravacuolaires sont visibles ($\times 1.450$).

Fig. 7. — Jeune oogone montrant l'ooplasme légèrement irrégulier et le périplasme. Il y a beaucoup de granulations lipidiques dans l'ooplasme.

Fig. 8. — Oogone, avec une oospore, coloré par le rouge neutre. A ce stade une seule grande vacuole est visible ($\times 1.450$).

Fig. 9. — Section d'une jeune anthéridie traitée par la méthode de Kolatchev et colorée par l'érythrosine. Les précipités vacuolaires ayant réduit l'acide osmique sont colorés en noir à l'intérieur des vacuoles incolores ($\times 1.500$).

Fig. 10. — Section d'un oogone et d'un hyphé traités par la méthode de Kolatchev et colorés par l'érythrosine. Les précipités vacuolaires ayant réduit l'acide osmique sont colorés en noir à l'intérieur des vacuoles incolores. Centralplasme coloré un peu plus intensément ($\times 1.800$).

Fig. 11. — Section d'un oogone, avec une oospore, traité par la méthode de Kolatchev ($\times 1.800$).

Fig. 12. — Jeune anthéridie et jeune oogone *in vivo* colorés par le vert Janus qui a mis en évidence les éléments du chondriome. (Quelques granulations lipidiques ont été dessinées ici.) ($\times 1.200$).

Fig. 13. — *Idem*. Coupe. Fixation dans le liquide de Helly, coloration par l'hématoxyline ferrique, montrant les éléments du chondriome ($\times 1.200$).

Fig. 14. — Section d'une oogone, avec oosphère, fixé dans le liquide de Helly et coloré par l'hématoxyline ferrique montrant les éléments du chondriome, les vacuoles, le noyau ♂ et le noyau ♀.

Pythium mamillatum.

Fig. 15. — Un hyphé de *P. mamillatum* traité par la méthode de Kolatchev (en coupe) montrant les précipités vacuolaires à l'intérieur du canal vacuolaire anastomosé.

PLANCHE XV

Pythium deliense.

Matériel fixé dans la solution de Flemming fort. Pour la clarté des figures, les éléments du chondriome n'ont généralement pas été dessinés. Grossissement des figures de cette planche $\times 1.800$. Les fig. 3 à 12 représentent des coupes.

Fig. 1. — Filaments destinés à former un oogone terminal et une anthéridie terminale, non coupés. On voit beaucoup de petits noyaux.

Fig. 2. — Jeune oogone et jeune anthéridie intercalaire, non coupées. L'oogone et l'anthéridie sont multinucléées. Les noyaux de l'oogone sont plus gros.

Fig. 3. — Jeune oogone montrant beaucoup de noyaux et quelques petites vacuoles.

Fig. 4. — Jeune oogone et anthéridie. Dans l'oogone, noyaux en métaphase et, dans l'anthéridie, noyaux au début de la prophase. Les éléments du chondriome ont été dessinés ici.

Fig. 5. — A l'intérieur de l'oogone se trouvent beaucoup de vacuoles et les noyaux se dirigent vers la périphérie après leur division.

Fig. 6. — Le contenu de l'oogone s'est différencié en périplasma et ooplasme. Beaucoup de noyaux se trouvent à la périphérie, mais paraissent entrer en dégénérescence. On voit un gros noyau se dirigeant vers l'ooplasme au centre duquel on distingue le centralplasma. Il y a de grandes vacuoles à la partie périphérique de l'ooplasme. Les éléments du chondriome ont été dessinés.

Fig. 7. — Comme ci-dessus, mais le noyau femelle se trouve à mi-chemin vers le centralplasma. Dans l'anthéridie on voit un noyau mâle et deux noyaux en dégénérescence.

Fig. 8. — Le centralplasma est légèrement plus coloré que le reste de l'ooplasme.

Fig. 9. — Centralplasma dans lequel on voit le noyau femelle en contact avec une tache noire (due à une mauvaise différenciation).

Fig. 10. — Anthéridie montrant un noyau en métaphase.

Fig. 11. — A l'intérieur de l'oogone, un noyau mâle fusionnant avec le noyau femelle. Le périplasma et le noyau périphérique sont presque complètement dégénérés. A l'intérieur de l'anthéridie, très peu de protoplasme.

Fig. 12. — Une oospore mûre, avec une membrane épaisse à l'intérieur de l'oogone. On voit le noyau fécondé et un globule de réserve.

Fig. 13. — Noyaux (prophase) à l'intérieur de l'oogone.

PLANCHE XVI

Pythium deliense

Grossissement $\times 1.500$.

Fig. 1. — A l'intérieur d'une oogone (*in vivo*), une jeune oospore renfermant de grosses granulations lipidiques et une anthéridie avec le tube de fécondation. L'anthéridie est vide, mais on y voit cependant (*in vivo*) quelques granulations lipidiques et un peu de protoplasme.

Fig. 2. — Oospore presque mûre avec une membrane épaisse à l'intérieur de l'oogone, après traitement par la solution iodo-iodurée, montrant le pro-

toplasme coloré en acajou, mais d'une manière plus ou moins intense selon les endroits (non coupé).

Fig. 3. — Oospore mûre vivante avec un globule de réserve et un corps réfringent.

Fig. 4. — Oospore mûre traitée par l'acide osmique. Le globule de réserve a ici une cavité intérieure.

Fig. 5. — Le globule de réserve présente 3 cavités intérieures.

Fig. 6. — Section d'oogone. Le noyau femelle est visible dans le centralplasme et le noyau mâle dans le tube de fécondation.

Fig. 7. — *Idem*. Ici le noyau mâle est libre à côté du noyau femelle.

Fig. 8. — Oospore à moitié mûre avec une grosse vacuole. La membrane n'est pas très épaisse (coupe).

Fig. 9. — Photographie d'une boîte de Petri avec milieu de culture montrant la partie hydrolysée par *P. deliense* (culture de 24 h. à 40°C). L'espace complètement hydrolysé apparaît en blanc.

Fig. 10. — *Idem*. Culture de 48 h. à 40°C.

PLANCHE XVI bis

Photographies de boîtes de Petri contenant le milieu de culture montrant comparativement les parties hydrolysées par divers Champignons au bout de 48 h. à différentes températures. L'espace complètement hydrolysé apparaît en blanc. Le matériel a été traité par la solution iodo-iodurée avant la photographie.

Ind. = *Pythium indigoferæ*.

Mam. = *Pythium mamillatum*.

Deb. = *Pythium de Baryanum*.

Del. = *Pythium deliense*.

A 35° les photos de *Ind.*, *Man.* et *Deb.* sont du même type parce qu'il n'y a pratiquement aucune croissance de ces Champignons à cette température.

BIBLIOGRAPHIE

- ASHBY (S. F.). — 1928. The oospores of *Phytophthora Nicotianae* Br. de Haan with notes on the taxonomy of *P. parasitica* Dastur. *Trans. brit. myc. Soc.*, T. 8 : pp. 86-95.
- BACH (D.). — 1925. Contribution à l'étude de la nutrition azotée de l'*Aspergillus repens* de Bary. *Thèse, Fac. des Sciences, Paris*, 1925 (St-Dizier, André Brulliard).
- BERLESE (A.-N.). — 1897. Ueber die Befruchtung und Entwicklung der Oosphaere bei den Peronosporéen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, T. 31, pp. 159-196.
- BOSE (S.-K.). — 1931. The question of Golgi bodies in the higher fungi. *Ann. Bot.*, T. 45, p. 303.
- BOWEN (R.-H.). — 1926. Preliminary notes on the structure of plant protoplasm. *Science*, 63 : pp. 620-621.
- BOWEN (R.-H.). — 1927. A preliminary report on the structural elements of the cytoplasm in plant cells. *Biol. Bull.*, 53, pp. 119-196.
- BOWEN (R.-H.). — 1928. Studies on the structure of plant protoplasm. I. The osmiophilic platelets. *Zeitschr. f. Zellforschung und mikr. Anat.* T. 6.
- BOWEN (R.-H.). — 1929. II. Plastidome and pseudo-chondriome. *Ibid.*, T. 7.
- BOWEN (R.-H.). — 1929-30. The use of osmic impregnation methods in plant cytology. *Bull. of Torrey bot. Club*, T. 56.
- BOYLE (C.). — 1924. The growth reactions of certain fungi to their staling products. *Ann. of Bot.*, T. 38 ; p. 113.
- BRAUN (H.). — 1925. Comparative studies of *Pythium de Baryanum* and two related species from *Geranium*. *Jour. Agr. Res. Washington*, T. 30 : pp. 1.043-1.062.
- BREDA DE HAAN (J. van). — 1896. De bibitziekte in Deli tabak, veroorzaakt door *Phytophthora Nicotianae*. *Med's Londs Plantentuin*, Nr. 15, p. 107.
- BRIGHTMAN (C.), MEACHAM (M.) and ACREE (S.). — 1920. A spectrophotometric study of the « salt effects » of phosphate upon the color of phenol-sulfone-phthaleine salts and some biological applications. *Journ. Bacter.*, T. 5 ; p. 169.
- BUTKEWITSCH (W.). — 1903. Umwandlung der Eiweiss-stoffe durch die niederen Pilze im Zusammenhang mit einigen Bedingungen ihrer Entwicklung. *Jahrb. f. wiss. Botanik*, T. 38, p. 147.

- BUTLER (E. J.). — 1907. An account of the genus *Pythium* and some *Chytridiaceæ*. *Memoirs of the Dept. of Agr. in India*, T. 1, pp. 1-160.
- CARLSON (M. C.). — 1929. Gametogenesis and fertilization in *Achlya racemosa*. *Ann. of Bot.*, T. 43, pp. 111-117.
- CHAZE (J.). — 1925. Essais de culture pure d'une Saprolegniacée, (Diplôme d'Etudes supérieures). *Ed. L. Declume*, Lons-le-Saulnier.
- CLARK (M.) et LUBS (M.). — 1917. The calorimetric determination of hydrogen ion concentration and its application in Bacteriology. *Journ. Bact.* 2.
- CLAUSSEN (P.). — 1908. Ueber Entwicklung und Befruchtung bei *Saprolegnia monoica*. *Festschr. deutsch. bot. Ges.*, T. 26, p. 144.
- COOPER (G. O.). — 1929. A cytological study of fertilization in *Achlya hypogina* Coker and Pemberton, and cytological studies on the sporangium development and gametogenesis in *Brevilegnia dictyna* Harvey. *Trans. Wisconsin. Acad. Sc.*, T. 24, pp. 303-322.
- COUCH (J. N.). — 1926. Notes on the genus *Aphanomyces*, with a description of a new semiparasitic species. *Jour. Elisha Mitchell Sci. Soc.*, T. 41, pp. 213-227.
- COUCH (J.-N.). — 1932. The development of the sexual organs in *Leptolegnia caudata*. *American Jour. Bot.*, T. 19, pp. 584-599.
- DANGEARD (P. A.). — 1894. Recherches sur la reproduction sexuelle des Champignons. *Le Botaniste*, p. 221.
- DANGEARD (P. A.). — 1931. *Pythium muscæ*. *Le Botaniste*, 22^e série, p. 452.
- DAVIS (B. M.). — 1900. The fertilization of *Albugo candida*. *Bot. Gaz.* T. 29, p. 297.
- DAVIS (B. M.). — 1903. Oogenesis in *Saprolegnia*. *Bot. Gaz.*, T. 35, pp. 233-249 et 320-349.
- DAVIS (B. M.). — 1905. Fertilization in the Saprolegniales. *Bot. Gaz.*, T. 39.
- DAVIS (R. G.). — 1926. *J. Agric. Res.*, T. 31, pp. 801-825.
- DE BARY (A.). — 1881. Untersuchungen über die Peronosporéen und Saprolegnien und die Grundlagen eines natürlichen Systems der Pilze. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze. IV.
- DE BARY (A.). — 1887. Comparative morphology and biology of the Fungi, Mycetozoa and Bacteria. English Ed. Oxford.
- DENNIS (R. W. G.). — 1933. *The West of Scotland agricul. Coll. Bull.* 3.
- DRECHSLER (Ch.). — 1930. Some new species of *Pythium*. *Jour. wash. Acad. Sc.*, T. 20, pp. 398-418.
- DOSDALL (L.). — 1923. *Minn. Agric. Expt. Sta. Tech. Bull.* 17.
- DUBOSCQ (O.) et GRASSÉ (P.). — 1933. L'appareil parabasal des Flagellés avec remarques sur le trophosome, l'appareil de Golgi et le vacuome. *Arch. Zool. exp. et gén., Protist*, T. 37, 1933.
- EDSON (H. A.). — 1915. *Rheosporangium aphanodermatum*. A new

- genus and species of fungus parasitic on sugar beets and radishes. *Jour. Agr. Res.*, Washington. T. 4, pp. 279-293.
- EICHHORN (A.). — 1933. La mitose somatique du cotonnier. *C. R. Soc. Biol.*, T. XCII, p. 260.
- EICHHORN (A.). — 1933 a. *C. R. Soc. Biol.*, T. 112, p. 535.
- EICHHORN (A.). — 1934 a. Le noyau et sa division chez le Lupin. *C. R. Soc. Biol.* T. CXV; p. 1.064.
- EICHHORN (A.) et FRANQUET (R.). — 1934. Sur le noyau de *Musa Ensete* et sa division. *C. R. Soc. Biol.*, T. CXVII, p. 653.
- EICHHORN (A.) et FRANQUET (R.). — 1934 b. A propos du polymorphisme nucléaire. *C. R. Soc. Biol.*, T. CXVII, p. 983.
- EZEKIEL (V.). — 1923. Hydrogen ion concentration and development of *Sclerotinia Apothecia*. *Science* (166), 31 août.
- FISCH (C.). — 1885. Ueber das Verhalten der Zellkerne in fusionierenden Pilzzellen. *Bot. Cent.*, T. 24, p. 221.
- FITZPATRICK (H. M.). — 1930. The lower fungi. *Phycomycetes*.
- FORENBACHER (A.). 1911. Die Chondriosomen und Chromatophorenbildung. *Ber. d. deut. bot. Gesell.*, T. 29, pp. 648-660.
- FRIEDRICHS (Gr.). — 1922. Entstehung der Chromatophoren bei *Elodea canadensis*. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 61; pp. 430-450.
- GAUTHERET (R. J.). — 1935. Recherches sur la culture des tissus végétaux : Essais de culture de quelques tissus méristématiques. *Thèse, Fac. des Sciences*, Paris (Rennes, Imprimerie Oberthur).
- GAVAUDAN (P.). — 1933. Sur une certaine corrélation entre la réversibilité des phénomènes d'instabilité cytoplasmique et la disparition spontanée des colorations vitales du vacuome dans l'*Ascoidea rubescens*. *C. R. Ac. Sc.*, 196, p. 563.
- GAYNEY. — 1918. Soil reaction and the growth of *Azotobacter*. *Jour. Agri. Res.* Washington. T. 15, p. 265.
- GHIMPU (V.). — 1930. Recherches cytologiques sur les genres *Hordeum*, *Acacia*, *Medicago*, *Vitis* et *Quercus*. *Thèse, Fac. des Sciences*, Paris.
- GOLGI (C.). — 1898. *Arch. ital. de Biol.*, 30, pp. 60-71 et 278-286.
- GUEGEN (E.). — 1898-1899. Recherches sur les organismes mycéliens des solutions pharmaceutiques. *Bull. Soc. Myc. France*, T. 14 : pp. 201-252 et T. 15, pp. 15-36.
- GUILLIERMOND (A.). — 1903. Recherches cytologiques sur les Levures. V. Corpuscules métachromatiques. *Rev. gén. Bot.* T. 15, p. 166.
- GUILLIERMOND (A.). — 1913. Les progrès de la cytologie des Champignons. *Progress. Rei Botanicae*, pp. 389-549.
- GUILLIERMOND (A.). — 1920 a. Sur la métachromatine des Champignons. *C. R. Soc. Biol.*, 83, p. 202.
- GUILLIERMOND (A.). — 1920 b. Observations cytologiques sur le cytoplasme d'un *Saprolegnia*. *La Cellule*, T. 30, pp. 357-378.
- GUILLIERMOND (A.). — 1929 a. Sur le développement d'un *Saprole-*

- gnia* en milieu additionné de colorants vitaux et coloration vitale de son vacuome, pendant son développement. *C. R. Ac. Sc.*, 188. p. 1.621.
- GUILLIERMOND (A.). — 1930 a. Le vacuome des cellules végétales. *Protoplasma*. 9, p. 133.
- GUILLIERMOND (A.). — 1930 b. Culture d'un *Saprolegnia* en milieu additionné de colorants vitaux. Valeur de la coloration vitale. *Bull. Hist. appl. à la Physiol.*, T. 4, p. 66.
- GUILLIERMOND (A.). — 1930 c. Sur la toxicité des colorants vitaux. *C. R. Soc. Biol.*, T. 104, p. 468.
- GUILLIERMOND (A.). — 1934 (a). Le chondriome. Actualités scientifiques et industrielles. Hermann, Paris.
- GUILLIERMOND (A.). — 1934 (b). Le système vacuolaire ou vacuome. Hermann, Paris.
- GUILLIERMOND (A.). — 1935. Nouvelles recherches sur la nature et la signification des formations dites de Golgi. *Rev. de Cytol. et de Cytophysiol. végétales*. T. I, pp. 197-249.
- GUILLIERMOND (A.). MANGENOT (G.) et PLANTEFOL (L.). — 1933. Traité de cytologie végétale. Librairie E. Le François, Paris.
- GUILLIERMOND (A.) et OBATON (F.). — 1934. Sur l'action du pH du milieu dans la coloration vitale des cellules végétales. *C. R. Soc. Biol.*, T. CXVI, p. 984.
- GWYNNE-VAUGHAN (H. C. I.) et BARNES (B.). — 1927. The structure and development of the fungi.
- HOPKINS (E.). — 1922. Hydrogen ion concentration in its relation with wheat scab. *Amer. Jour. Bot.* T. 9, p. 159.
- JOCHEMS (S. C. J.). — 1927. Parasitic Stengel-Verbranding bij Deli-Tabak, *Med. Deli Praestation te Medan-Sumatra*, Ser. 2, n° 49, p. 35.
- JORDAN (E. O.). — 1920. A Text-book of general Bacteriology.
- KARRER (J.). — 1921. Studies in the physiology of fungi. XIII. The effect of hydrogen ion concentration upon the accumulation and activation of amylase produced by certain fungi. *Ann. Miss. Bot. Gard.* T. 8, p. 63.
- KIRBY (R.). — 1922. *Phytopath.*, T. 12, pp. 66-65.
- KIRBY (R. S.). — 1925. *Cornel. agric. Expt. Sta.*, Mem. 88.
- KING (C. A.). — 1904. Observations in the cytology of *Avaiaospora pulchra*. *Proc. Boston Soc. Nat. Hist.*, T. 31, pp. 211-245.
- KLOTZ (J.). — 1923. Some aspects of nitrogenous metabolism in fungi. *Ann. Miss. Bot. Gard.*, T. 10, p. 1.
- KRUGER (F.). — 1910. Beitrag zur Kenntniss der Kernverhältnisse von *Albugo candida* und *Peronospora Ficarise*. *Cent. f. Bakter.*, T. 27, pp. 186-205.
- LEACH (J. G.). — 1923. *Minn. Agric. Expt. Sta. Tech. Bull.* 14.
- LEWITSKY (G.). — 1910. Ueber die Chondriosomen in pflanzlichen Zellen. *Ber. deut. bot. Gesell.*, T. 28. pp. 538-548.

- LINDFORS (I.). — 1924. Einige Kulturversuche mit *Fusarium* Arten in Nährlösungen von verschiedenen Wasserstoffionenkonzentration. *Bot. Notizer*, p. 161.
- LINOSSIER (G.) et ROUX (G.). — 1890. Sur la nutrition du Champignon du muguet. *C. R. Ac. Sc.*, 110, p. 335.
- LWOFF (A.). — 1932. Recherches biochimiques sur la nutrition des Protozoaires. Le pouvoir de synthèse. *Thèse Fac. des Sciences*. Paris.
- MATTHEWS (V. D.). — 1931. Studies in the Genus *Pythium*. Chapel Hill. The University of North Carolina Press, p. 136.
- Mc KINNEY (H. H.). — 1925. *U. S. Dept. Agric. Bull.* 1347.
- MEURS (A.). — 1934. Parasitic stemburn of deli tobacco. *Phytopathologische Zeitschrift*. T. 7, Heft 2, pp. 169-185.
- M'GREGOR-ROBERTSON (J.). — The household Physician. T. II.
- MITRA (M.) and MEHTA (P.-R.). — 1934. The effect of hydrogen ion concentration on the growth of *Helminthosporium nodulosum* B. et C. and *H. leucostylum* Drech. *The Indian Journ. Agr. Sc.*, T. 4, p. 5, et 914.
- MIYAKE (K.). — 1901. The fertilization of *Pythium de Earlanum*. *Ann. of Bot.*, T. 15. pp. 653-667.
- MOREAU (F.). — 1914. Le chondriome et la division des mitochondries chez les *Vaucheria*. *Bull. Soc. Bot. France*, T. 61, pp. 139-142.
- MOTTIER (D. M.). — 1918. Chondriosomes and the primordia of chloroplasts and leucoplasts. *Ann. of Bot.*, T. 32, pp. 91-144.
- MOTTIER (D.-M.). — 1921. On certain plastids, with special reference to the protein bodies of *Zea*, *Ricinus* and *Conopholis*. *Ann. of Bot.*, T. 35, pp. 349-364.
- MURPHY (P. A.). — 1918. The morphology and cytology of the sexual organs of *Phytophthora erythroseptica* Pethy. *Ann. of Bot.*, t. 32, pp. 115-153.
- NÄSSLUNG (C.) und DERNBY (K.). — 1923. Untersuchungen über einige physiologische Eigenschaften der Strahlenpilze. *Bioch. Zeits.* 138, p. 497.
- NASSONOW (D.). — 1918. Recherches cytologiques sur les cellules végétales. *Arch. russes d'Anat., Hist. et Embryologie*. 2, pp. 95-127.
- PARAT (M.). — 1928. Contribution à l'étude morphologique et physiologique du cytoplasme. *Arch. Anat. micr.* T. 24.
- PATTERN (R.), SCOTT (M.) et GATENBY (J. B.). — 1928. The cytoplasmic inclusions of certain plant cells. *Quart. Journ. Mic. Sc.*, T. LXXII; pp. 387-401.
- PATTERSON (P.). — 1927. Oögenesis in *Pythium torulosum*. *Journ. Elisha Mitchell. Sc. Soc.*, T. 43, pp. 124-128.
- PELTIER (G.). — 1912. A consideration of the physiology and life history of a parasitic *Eotrytis* on pepper and lettuce. *Rep. Miss. Bot. Gard.*, T. 23, p. 74.

- PELTIER (G.). — 1921. The influence of temperature and humidity on the growth of *Pseudomonas Citri* and its host plants and an infection and development of the disease. *Jour. Agr. Res.* Washington. T. 20; pp. 447-506.
- PETRI (L.). — 1913. Studi sulla malattia del Castagni, detta « dele inchiestro » *Ann. del R. Inst. sup. forest. naz.*, T. 3.
- POLICARD (A.) et MANGENOT (G.). — 1922. Action de la température sur le chondriome cellulaire. *C. R. Ac. Sc.*, 174, pp. 645.
- RUHLAND (W.). — 1904. Studien über die Befruchtung von *Albugo Lepigoni* und einiger Peronosporéen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, T. 39. pp. 135-166.
- SAKSENA (R. K.). — 1932. Observation sur le chondriome de *Pythium de Baryanum*. Hesse. *C. R. Soc. Biol.*, T. CXI; p. 751.
- SCHROETER (J.). — 1897. *Saprolegniae* in « Engler-Prantl » *Natürliche Pflanzenfamilien* I. Abt. I. p. 104.
- SIDERIS (C. P.). — 1929. Taxonomic studies in the family *Pythiaceæ*. *Phytopathology*. T. 19, pp. 1.142-1.143 (abstract).
- SIDERIS (C. P.). — 1930. The proper taxonomic classification of certain pythiaceous organisms. *Science*, N. S., T. 71; pp. 323-324. (Abstract in *Rev. appl. myc.* T. 9, p. 561).
- SIDERIS (C. P.). — 1931. Taxonomic studies in the family *Pythiaceæ*. I. *Nematosporangium*. *Mycologia*. T. 23; pp. 252-295.
- SIDERIS (C. P.). — 1931 a. The classification of *Pythium*. *Science*, N. S., t. 74; pp. 596-597 (abstract in *Rev. appl. myc.*, T. 11; p. 330).
- SIDERIS (C. P.). — 1932. Taxonomic studies in the family *Pythiaceæ*. II. *Pythium*. *Mycologia*. T. 34.
- SINGH (U. B.). — 1923. *Ind. Jour. Agr. Sc.*, 3, pp. 496-529.
- SMITH (F. E. W.). — 1923. On direct nuclear division in the vegetation mycelium of *Saprolegnia*. *Ann. of Bot.*, T. 37., pp. 63-73.
- SPARROW (F. K.). — 1931. The classification of *Pythium*. *Science*, N. S. T. 73, pp. 41-42 (abstract in *Rev. Appl. myc.*, T. 10, p. 342).
- SPARROW (F. K.). — 1932. The classification of *Pythium*. *Mycologia*. T. 24, pp. 349-351.
- STEVENS (F. L.). — 1899. The compound oospore of *Albugo Bliti*. *Bot. Gaz.*, T. 28, p. 149.
- STEVENS (F. L.). — 1901. Die Gametogenese und Befruchtung bei *Albugo*. *Ber. deut. bot. Gesel.*, T. 19, p. 171.
- STEVENS (F. L.). — 1901. Gametogenesis and Fertilization in *Albugo*. *Bot. Gaz.*, T. 32, p. 77.
- TROW (A. H.). — 1899. Observation on the biology and cytology of a new variety of *Achlya americana*. *Ann. of Bot.*, T. 13, p. 131.
- TROW (A. H.). — 1901. Observations of the biology and cytology of *Pythium ultimum*. *Ann. of Bot.*, T. 15, p. 269.
- TROW (A. H.). — 1904. On fertilization in the *Saprolegnieae*. *Ann. of Bot.*, T. 18, pp. 541-569.

- VOLKONSKY (M.). — Sur les conditions de culture et le pouvoir de synthèse de *Saprolegnia* sp. (Étude qualitative de l'alimentation carbonée, azotée et sulfurée). 2^e Thèse. Fac. des Sciences. Paris.
- VOLKONSKY (M.). — 1933 a. — Sur l'assimilation des sulfates par les Champignons : euthiotrophie et parathiotrophie. C. R. Ac. Sc. 197, pp. 712-714.
- VOLKONSKY (M.). — 1934 b. Sur la nutrition de quelques Champignons saprophytes et parasites. Ann. de l'Institut Pasteur. T. LII, p. 76.
- WAGER (H.). — 1896. On the structure and reproduction of *Cystopus candidus*. Ann. of Bot. T. 10, p. 295.
- WAGER (H.). — 1900. On the fertilization of *Peronospora parasitica*. Ann. of Bot., T. 14.
- WAKSMAN (S.) et JOFFE (J.). — 1920. Studies in the metabolism of *Actinomyces*. 4. Changes in reaction as a result of the growth of *Actinomyces* upon culture media. Jour. Bact., T. 5, p. 31.
- WARD (H. M.). — 1883. Observations on the genus *Pythium* Pringsh. Quart. Journ. Micros. Sc., T. 23.
- WEIER (T. E.). — 1930. Notes on the plastid and other cytoplasmic bodies during sporogenesis and spermatogenesis in *Polytrichum commune*. Proc. of the Nat. Acad. of Sc.
- WEIER (T. E.). — 1931. A study of the moss plastid after fixation by mitochondrial, osmium and silver techniques. I. Plastid during sporogenesis in *Polytrichum commune*. La Cellule, 40, pp. 261-360. II. The Plastid during spermatogenesis in *Polytrichum commune* and *Caltharinaea undulata*. La Cellule, 41, pp. 51-84.
- WEIER (T. E.). — 1932 a. The structure of the bryophytic plastid. American Jour. of Bot., T. 19, pp. 659-672.
- WEIER (T. E.). — 1932 b. A comparison of the plastid with the Golgi zone. Biol. Bull., 62, pp. 126-139.
- WEIER (T. E.). — 1933. Neutral red staining in the protonema of *Polytrichum commune*. American Jour. of Bot., T. 20, pp. 431-439.
- WEIER (T. E.). — 1933. A critique of the vacuome hypothesis. Protoplasma, T. 19.
- WILLIS (J. C.). — 1925. A dictionary of the flowering plants and ferns.
- ZELLER (S.). — 1916. *Lenzites Saepiaria* Fries with special reference to enzyme activity. Ann. Miss. bot. Gard., 3 ; p. 439.

BIBLIOGRAPHIE

SEWARD (A.-C.). — Les plantes. Ce qu'elles sont. Ce qu'elles font. Préface de M. P.-A. DANGEARD. Traduit de l'anglais par M. Pierre GAVAUDAN. 1 vol. in-8, 164 p. et 31 fig. Paris, Hermann et C^{ie}. 1932.

C'est avec raison que le P^r DANGEARD, en présentant ce livre aux Botanistes français, fait remarquer que : « les spécialistes, quelle que soit, la direction de leurs recherches, ne se préoccupent guère, en général, de rendre accessibles à chacun les connaissances qu'ils ont acquises dans une science déterminée ». Cette constatation, malheureusement trop exacte, reflète bien la préoccupation de l'illustre botaniste anglais. « Mon but, en écrivant ce livre, est de présenter quelques aspects de la vie de la plante dans un langage aussi dépourvu que possible de termes techniques pour les lecteurs qui n'ont que peu ou pas de connaissances en Botanique et, en général, en Sciences naturelles. Le lecteur jugera certainement que ce programme a été parfaitement réalisé. Même les spécialistes tireront profit de cet instructif et original exposé.

Le premier chapitre est consacré à la comparaison des animaux et des plantes ; le second, à la réponse des végétaux aux excitations : et l'auteur en profite pour rappeler les célèbres expériences à Oxford, de Thomas KNIGHT, « naturaliste perspicace et sportsman » sur l'action de la pesanteur sur les végétaux, ainsi que celles de Charles et Francis DARWIN. Puis le P^r SEWARD montre la supériorité des plantes sur les animaux. La plante, par exemple, ne reste-t-elle pas le seul laboratoire où les hydrates de carbone ainsi que d'autres composés organiques sont produits aux températures ordinaires ? L'auteur, à ce point de vue, partage donc l'opinion de divers physiologistes français ; en autres : le chanoine COLIN (*De la Matière à la Vie*) et J. DUCLAUX (*L'analyse physico-chimique des fonctions vitales*). Comment la plante se procure-t-elle de l'énergie ? A partir du carbone, puisé dans l'air, des sels, puisés dans le sol ; de l'eau, provenant de l'air et du sol. L'auteur étudie également la structure des plantes : les cellules qui, associées, forment les tissus ; les organes : feuilles vertes dont Léonard de Vinci montra, le premier, la distribution régulière sur les tiges et dont l'auteur fait une étude anatomique et physiologique détaillée : ce qui lui permet d'aborder le problème de la photosynthèse et de montrer le rôle des diastases dont il compare l'action à celle d'une goutte d'huile facilitant le glissement d'un poids sur une lame de verre inclinée ; les racines qui servent à l'ascension de la sève.

Notre dette envers les Bactéries est grande : à elles incombe, en effet, le ravitaillement du monde en azote : ce qu'illustrent deux schémas très simplifiés du cycle de l'azote et du carbone. Enfin vient l'étude des graines et plantules, puis celle des premiers stades de l'évolution des plantes. Les exemples choisis, présentés dans un ordre de complication croissante, sont l'Euglène, le Chlamydomonas, le Gonium, le Volvox : ce qui amène l'auteur à montrer la grandeur du problème de l'évolution.

Un glossaire des termes techniques employés termine cet ouvrage qui ne semble jamais être une traduction : ce qui est bien le meilleur éloge qu'on puisse faire du traducteur.

Ad. DAVY DE VIRVILLE.

BÆUF (F.). — Les bases scientifiques de l'amélioration des plantes. (Biologie, génétique, écologie, biométrie, statistique.) 1 vol. in-8, 543 p. et 50 fig. Paris, P. Lechevalier, 1936. Prix : 140 francs.

Ce volumineux ouvrage renferme un exposé substantiel des principaux travaux de génétique, d'écologie, de biométrie et de statistique, envisagés par rapport aux services qu'ils peuvent rendre ou aux données qu'ils sont susceptibles de fournir pour l'amélioration des plantes cultivées. Il est divisé en trois parties.

La première est consacrée à la vie et aux êtres vivants. Après une introduction renfermant un bref aperçu sur l'origine de l'agriculture, ainsi que sur l'importance économique de l'amélioration de la production végétale et des bases scientifiques sur lesquelles celle-ci doit se fonder, l'auteur étudie d'abord la matière vivante. Il examine successivement sa composition et son état physico-chimique, son fonctionnement, ses relations avec la matière inerte, son ancienneté et son origine. Puis il expose nos connaissances sur la cellule dont il étudie, à la lumière des travaux les plus récents, les chondriosomes, le noyau ainsi que les modes de division et de différenciation. Le chapitre suivant traite de l'individu. L'auteur montre la différence entre les individus unicellulaire et pluricellulaire ainsi qu'entre l'hérédité totale et l'hérédité partielle : le soma et le germe. Vient l'étude de la reproduction sexuée et de la fécondation ; puis celle de la dégradation et de la disparition de la sexualité (phénomènes de parthénogénèse et d'apogamie), enfin celle de la multiplication végétative dont les divers modes sont décrits ainsi que leurs relations avec la reproduction sexuée.

La deuxième partie est consacrée à l'hérédité et à la variation. L'auteur étudie d'abord l'hybridation, puis il montre comment on peut faire l'analyse du patrimoine héréditaire : ce qui le conduit à présenter la théorie chromosomique de l'hérédité et à exposer nos connaissances sur les hybridations interspécifiques et interféériques. Il passe ensuite aux variations héréditaires ou mutations : il distingue les mutations factorielles et chromosomiques et étudie leur production expérimentale. Dans les variations non héréditaires, il range la varia-

tion individuelle ou fluctuation et la variation collective orientée ou adaptation : ce qui l'amène à étudier le problème de l'évolution dont il s'efforce d'élucider le mécanisme. Après un exposé des diverses théories, il conclut que si la génétique nous permet de comprendre la variation héréditaire à l'échelle du génotype, de l'espèce ou même du genre (micro-évolution), par contre nous n'avons aucune certitude quant au mode de constitution des divers types d'organisation apparus simultanément ou successivement sur le globe (macro-évolution). Un dernier chapitre traite des groupes végétaux et des bases biomorphologiques de la systématique.

La troisième partie, la plus importante et la plus caractéristique de l'ouvrage, est consacrée aux méthodes d'amélioration des végétaux : et d'abord, à la sélection en masse ou individuelle dont le seul résultat certain est de permettre l'isolement, dans une population végétale, des lignées pures ; puis à l'hybridation dont il expose la technique et les possibilités ; enfin à la multiplication végétative : bouturage et surtout greffage dont il fait une intéressante étude critique. Les mutations gemmaires sont également envisagées chez le Pommier et la Pomme de terre. L'étude de l'adaptation des cultures au milieu physico-chimique amène l'auteur à montrer d'abord les besoins de la plante, puis les propriétés physiques du milieu naturel, c'est-à-dire à étudier brièvement les facteurs écologiques de la répartition des végétaux, et ensuite l'adaptation des plantes au milieu naturel traduite par des variations morphologiques et physiologiques, enfin les modifications apportées aux végétaux par leur mode de culture et aussi leur acclimatement. Un ultime chapitre montre la nécessité, mais aussi la difficulté de comparer les résultats obtenus à la suite de cultures comparatives, autrement de déterminer un rendement valable en agriculture : et ceci tant en raison de l'hétérogénéité du milieu physico-chimique, que par suite des fluctuations dans le développement des plantes. Il expose donc diverses méthodes utilisées pour la comparaison des rendements et il en fait l'étude critique. Un tableau des probabilités respectives des écarts en fonction de l'écart des rendements et une « Table de Student » termine cet ouvrage qu'accompagne une Bibliographie des principaux ouvrages à consulter sur ces questions.

La variété et l'abondance des problèmes exposés dans ce livre indique suffisamment les services importants qu'il est appelé à rendre.

Ad. DAVY DE VIRVILLE.

L'ACCUMULATION DANS LA TIGE
ET LA RACINE DU *SALIX FRAGILIS*
DES SUBSTANCES AZOTÉES
PERDUES PAR LES FEUILLES
AU COURS DU JAUNISSEMENT AUTOMNAL

par Mlle ANDRÉE MÉROP

Il est maintenant bien établi, grâce surtout aux travaux de RISZMÜLLER (1874), L. DULK (1875), GRANDEAU et FLICHE (1878), E. RAMANN (1898-1912), TÜCKER et TOLLENS (1900), B. SCHULZE (1904), G. ANDRÉ (1909), E. STAHL (1909), MOLLIARD (1913), N. SWART (1914) et R. COMBES (1927), que les feuilles des arbres de nos régions perdent en automne, au cours du jaunissement qu'elles subissent, une grande part des substances azotées contenues dans leurs tissus.

Dès 1887, les physiologistes commençaient des recherches en vue de savoir ce que deviennent ces substances qui abandonnent le tissu des feuilles avant la mort et la chute automnale. Analysant séparément, aux divers stades du développement, les feuilles de différentes plantes ligneuses et les fragments de tiges sur lesquels ces feuilles se trouvaient fixées, ils obtinrent des résultats contradictoires ; les uns, J. HANAMANN (1887), FRÜHWIRTH et ZIELSTORFF (1901), conclurent que les tiges perdent comme les feuilles une part de leur azote, les autres, J. PÄSZLER (1891), G. ANDRÉ (1902), constatèrent un enrichissement des tiges corrélatif d'un appauvrissement des feuilles. Enfin, les analyses de BAUER (1900) et celles de LECLERC DU SABLON (1904), qui portaient à la fois sur les feuilles, les tiges et les racines, mettaient en évidence une accumulation

d'azote dans les tiges et les racines correspondant à la perte subie par les feuilles.

En 1927 R. COMBES (1) aborde le problème par un examen critique des résultats obtenus jusqu'alors ; il montre que les études limitées aux feuilles et à des fragments de tiges et de racines récoltés aux stades successifs du jaunissement automnal sont tout à fait insuffisantes pour « permettre de connaître les phénomènes physiologiques qui caractérisent l'activité préhivernale chez les arbres de nos régions. L'étude des divers organes de plantes entières considérées avant, pendant et après le jaunissement puis la chute des feuilles est indispensable et permettra seule de préciser la nature de ces phénomènes ». Les analyses doivent être faites dans des conditions permettant « d'établir le bilan de l'azote chez les plantes entières avant le jaunissement et après le jaunissement ». R. COMBES entreprend des recherches dans ce sens, en opérant sur le Chêne et sur le Hêtre ; des dosages d'azote sont effectués sur les feuilles, les tiges et les racines d'arbres jeunes récoltés aux différents stades du jaunissement automnal, ces arbres se trouvant soumis à l'analyse dans leur totalité. Les bilans qu'il établit lui permettent de répondre à la question discutée du devenir des substances azotées qui abandonnent les feuilles en automne ; pour la plus grande part, ces substances vont s'accumuler dans les tiges d'abord et dans les racines ensuite : « Pendant cette émigration des substances azotées des feuilles vers les organes vivaces, la teneur en azote de l'ensemble de la plante ne varie pas sensiblement. Par conséquent, non seulement on peut affirmer que le phénomène d'émigration — suivi d'accumulation — a lieu, mais encore il est permis d'ajouter qu'il porte sur la totalité ou la plus grande partie de l'azote qui disparaît des feuilles ». A noter seulement une légère baisse de l'azote total contenu dans la plante entière au moment où les feuilles commencent à jaunir, cette baisse pouvant permettre de supposer une faible sortie d'azote hors de la plante à ce stade.

Plus récemment N.T. DELEANO (2) a fait connaître de nouveaux

(1) R. COMBES. Emigration des substances azotées des feuilles vers les tiges et les racines des arbres au cours du jaunissement automnal (*Revue générale de Botanique*. T. 38. 1927).

(2) N.T. DELEANO. Die Rückwanderung der Stickstoffsubstanz aus den Laubblättern und ihre Speicherung im Stamme und Wurzel (*Bulletin de la Société des Sciences de Cluj, Roumanie*. T. 7. 1932).

résultats d'analyse portant sur le *Salix fragilis*. L'auteur récolte deux fois par semaine des rameaux feuillés en différents points d'un arbre, puis sur chaque rameau il sépare les feuilles et l'écorce et dose l'azote sous ses diverses formes d'une part dans les feuilles, d'autre part dans l'écorce. Il exprime ses résultats en les rapportant, pour les feuilles à 100 organes ainsi qu'à 100 grammes de substance sèche, pour l'écorce à 100 gr. de substance sèche.

DELEANO constate qu'en automne les feuilles perdent une partie de leurs substances azotées et que pendant le même temps l'écorce de rameaux analysée éprouve également un appauvrissement en azote. De ces résultats, il croit pouvoir conclure que l'azote qui abandonne les feuilles au cours du jaunissement ne s'accumule ni dans la tige ni dans la racine mais est rendu au sol.

Il nous a paru indispensable avant d'accepter cette conclusion de reprendre l'étude de DELEANO et de rechercher par l'analyse ce que devient l'azote dans les parties de la plante sur lesquelles il n'a pas fait porter ses dosages, sur le bois des rameaux et surtout sur le tronc et la racine, qui se comportent en général comme des organes d'accumulation typiques. Nous avons adopté la méthode employée par R. COMBES consistant à analyser, à chaque récolte, les plantes dans leur totalité, de façon à pouvoir établir des bilans ; et pour chaque plante, nous avons dosé l'azote séparément dans les feuilles, l'écorce de la tige, le bois de la tige, l'écorce de la racine et le bois de la racine, pour pouvoir préciser la part que prennent ces différents tissus dans le mouvement des substances azotées au cours de l'automne.

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

Le 8 mars 1934, des boutures de tiges de *Salix fragilis* ont été faites en pleine terre à Versailles dans les jardins de l'Ecole nationale d'Horticulture. Les fragments de tiges employés, de 24 cm. de longueur, provenaient du même arbre et étaient aussi semblables entre eux que possible ; chacun de ces fragments contenait 4 gr. de substance sèche environ. Le développement se fit dans d'excellentes conditions ; en automne les boutures avaient produit de beaux arbustes atteignant 1 m. 50 à 1 m. 70 de hauteur et très ramifiés ;

le poids des plantes était devenu jusqu'à 160 fois plus grand chez certains individus.

Les récoltes commencèrent le 15 juillet et se poursuivirent à intervalles d'un mois jusqu'à la chute des feuilles. Le début du jaunissement eut lieu vers le 1^{er} septembre et la chute des feuilles entre le 10 et le 15 novembre ; la dernière récolte fut faite le 15 novembre ; elle n'a par conséquent pu comporter les feuilles des plantes recueillies. A chaque récolte, quatre individus étaient arrachés, les racines étaient déterrées avec précaution de façon à les conserver dans leur intégrité, puis soigneusement nettoyées. Sur chaque individu étaient séparés, les feuilles, l'écorce de la tige, le bois de la tige, l'écorce de la racine, et le bois de la racine. Chacune de ces parties d'une même plante était séchée à l'étuve à 100° pour détermination de la substance sèche, puis l'azote total y a été dosé par la méthode de KJELDAHL-JODLBAUR. La somme des quantités d'azote trouvées dans ces cinq dosages représentait donc l'azote total contenu dans la plante entière.

RÉSULTATS

Le tableau ci-dessous réunit les résultats obtenus au cours des dosages effectués sur les quatre plantes traitées à chaque récolte ; ils sont exprimés en grammes et représentent les quantités d'azote trouvées dans les divers lots analysés et rapportées à 100 gr. de substance sèche.

Les courbes de la figure 1 traduisent les variations subies par la teneur en azote des différents tissus au cours de la période étudiée.

L'examen de ces résultats permet de faire les constatations suivantes :

Dans les quatre séries de plantes analysées, les dosages effectués sur les feuilles mettent en évidence une perte de substance azotée surtout sensible en septembre et octobre, c'est à dire pendant le jaunissement. La teneur des tissus foliaires tombe ainsi en octobre à la moitié environ de ce qu'elle était en juillet.

Dans les quatre séries également l'analyse montre qu'en été, en juillet et août, une baisse de la teneur en azote se produit aussi

Variations de la teneur en azote dans les tissus du Salix fragilis.

	15 juillet	15 août	15 sept.	15 octobre	15 nov.
1^{re} série d'arbres					
Feuilles	3,992	3,499	3,587	1,998	—
Tiges { Ecorce.....	1,313	1,077	1,479	2,004	2,322
{ Bois.....	0,549	0,275	0,466	0,685	0,711
Racines { Ecorce.....	1,255	0,832	1,065	1,703	2,095
{ Bois.....	0,748	0,485	0,917	1,680	1,805
Ensembles des tiges et racines	0,792	0,511	0,838	1,249	1,376
Plantes entières.....	1,619	1,121	1,178	1,345	—
2^e série					
Feuilles	4,224	3,500	3,319	2,174	—
Tiges { Ecorce.....	1,262	1,080	1,403	2,065	2,712
{ Bois.....	0,606	0,280	0,450	0,665	0,760
Racines { Ecorce.....	1,113	0,839	0,930	1,738	2,310
{ Bois.....	0,670	0,560	0,911	1,707	1,710
Ensembles des tiges et racines	0,826	0,515	0,694	1,304	1,637
Plantes entières.....	2,030	1,114	0,978	1,379	—
3^e série					
Feuilles	4,220	3,499	3,445	1,820	—
Tiges { Ecorce.....	1,273	1,074	1,432	1,850	2,520
{ Bois.....	0,580	0,277	0,455	0,728	0,754
Racines { Ecorce.....	1,163	0,834	0,985	1,680	2,105
{ Bois.....	0,671	0,525	0,916	1,680	1,789
Ensembles des tiges et racines	0,761	0,515	0,774	1,231	1,455
Plantes entières.....	1,717	1,126	1,071	1,274	—
4^e série					
Feuilles	3,792	3,406	3,411	1,997	—
Tiges { Ecorce.....	1,423	1,071	1,421	1,973	2,460
{ Bois.....	0,586	0,223	0,448	0,692	0,801
Racines { Ecorce.....	1,099	0,801	0,975	1,707	2,234
{ Bois.....	0,692	0,512	0,897	1,692	1,823
Ensembles des tiges et racines	0,796	0,487	0,800	1,140	1,486
Plantes entières.....	1,687	1,042	1,120	1,218	—
Résultats relatifs à une plante moyenne :					
Feuilles	4,057	3,476	3,440	1,997	—
Tiges { Ecorce.....	1,317	1,075	1,433	1,973	2,503
{ Bois.....	0,580	0,263	0,454	0,692	0,756
Racines { Ecorce.....	1,157	0,826	0,988	1,707	2,186
{ Bois.....	0,695	0,520	0,910	1,689	1,781
Ensembles des tiges et racines	0,793	0,507	0,776	1,231	1,488
Plantes entières.....	1,763	1,100	1,086	1,304	—

dans toutes les parties de l'axe, écorce de la tige et de la racine, bois de la tige et de la racine.

Par conséquent, à la fin de l'été, l'ensemble de la plante éprouve une diminution de sa teneur en azote. Cette diminution est à rap-

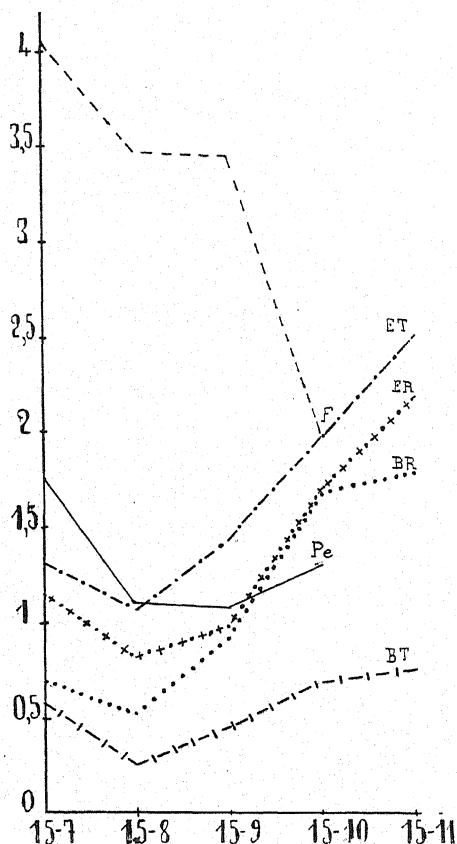


Fig. 1. — Variations de la teneur en azote dans les tissus du *Salix fragilis* : F, feuilles ; ET, écorce de la tige ; BT, bois de la tige ; ER, écorce de la racine ; BR, bois de la racine ; Pe, plante entière.

procher de celle constatée par R. COMBES, chez le Chêne et le Hêtre, en septembre, avant le jaunissement des feuilles. Elle peut s'expliquer par une perte réelle d'azote éprouvée par les plantes, mais aussi par une augmentation de la teneur des tissus en matières non azotées, en glucides par exemple ; cette dernière interprétation paraît la

plus vraisemblable étant donné l'époque à laquelle le phénomène se produit, au moment où la formation des glucides est le plus active.

Dans la suite, pendant le jaunissement automnal, au moment où les feuilles perdent une part importante de leurs substances azotées, dans toutes les parties de l'axe se produit une augmentation de la teneur en azote qui se continue jusqu'à la chute des feuilles. Cette augmentation est surtout élevée dans l'écorce de la tige, dans celle de la racine, dans le bois de la racine ; elle est notablement plus faible dans le bois de la tige.

Au cours de cette période, la teneur en azote d'une plante considérée dans sa totalité n'éprouve aucune baisse ; par conséquent les substances azotées qui abandonnent les feuilles émigrent vers la tige et la racine et s'accumulent intégralement dans ces deux organes.

Remarquons en outre que les analyses faites sur le *Salix fragilis* permettent des constatations analogues à celles que fit R. COMBES chez le Chêne et le Hêtre relativement à la teneur comparée des divers organes en azote en fin de végétation. L'activité des phénomènes de migration dont la plante est le siège en automne aboutit à réaliser des teneurs en azote très voisines dans les feuilles, la tige et la racine.

Enfin ces recherches démontrent combien il est nécessaire, dans les études relatives aux phénomènes de migration de substances, de faire porter les analyses sur des plantes entières et de ne pas se borner à l'examen de fragments d'organes.

CONCLUSIONS

Les matières azotées subissent en automne, chez le *Salix fragilis*, des variations semblables à celles constatées par R. COMBES chez le Chêne et le Hêtre. Les feuilles perdent au cours du jaunissement la moitié environ des corps azotés qu'elles contiennent ; ces substances émigrent vers les tiges et les racines où elles s'accumulent.

Les résultats obtenus montrent en outre que toutes les parties de l'axe participent à l'accumulation des substances venues des feuilles, mais inégalement ; le bois de la tige en accumule peu, ce sont surtout l'écorce de la tige, celle de la racine et le bois de la racine qui s'enrichissent aux dépens des feuilles.

MÉCANISME DE LA FORMATION DES SUTURES ET DE LEUR GROUPEMENT SUR LA MEMBRANE DES CLOSTERIUM

par M. LEFÈVRE

L'étude de la biologie des Desmidiées a, depuis longtemps, tenté les algologues. De fort intéressants travaux ont été publiés par KLEBS, FISCHER, HAUPTFLEISCH, LÜTKEMÜLLER, DE WILDEMAN, DUCELLIER pour ne citer que les principaux. Ces auteurs ne disposaient que de cultures brutes ou d'entretien et effectuaient uniquement leurs observations sur du matériel récolté dans la nature. Ils devaient malheureusement trop souvent au hasard d'une récolte propice, les observations très intéressantes qu'ils nous ont cependant léguées.

Plusieurs d'entre eux ont, maintes fois, déploré l'absence de cultures cloniques unialgales qui leur auraient permis de suivre à loisir et d'une façon continue les phénomènes si complexes qui accompagnent la multiplication et la croissance des cellules.

C'est pour combler cette lacune que M. P. ALLORGE, alors sous-directeur du laboratoire de Cryptogamie du Muséum me proposa, il y a quelques années, d'entreprendre avec lui de telles cultures. M. ALLORGE, appelé par la suite aux fonctions de Professeur n'eut plus le loisir de m'accorder sa collaboration, mais il n'en continua pas moins à assurer la direction de mes recherches et à les faciliter grandement par ses larges connaissances bibliographiques et par tous les moyens matériels qu'il put mettre à ma disposition. Je le prie d'accepter ici l'expression de ma vive reconnaissance.

J'ai donc cultivé un assez grand nombre d'espèces parmi lesquelles *Closterium acerosum* (Schr.) Ehrbg, *Clost. moniliferum* Ehrbg, *Clost. Ehrenbergii* Menegh. etc. et c'est sur ce Genre que porteront

toutes les observations qui vont suivre. Je ne parlerai que des phénomènes intéressant surtout la membrane et visibles souvent *in vivo* sans l'aide de réactifs ou colorants.

Je publierai ultérieurement mes procédés de culture, quelques courbes de multiplication ainsi que les observations relatives aux phénomènes intracellulaires.

* * *

Depuis longtemps (1902), LÜTKEMÜLLER a divisé le genre *Closterium* en deux sections : *Closterium* dits « à ceintures » et *Closterium* dits « sans ceintures ». Les premiers sont caractérisés par la faculté qu'ils possèdent de subir une élongation en dehors de toute division. Leur membrane est, en général épaisse, colorée en jaune brunâtre plus ou moins intense et visiblement ornementée. Les seconds sont inaptes à modifier leurs dimensions en dehors de la période de division ; leur membrane est mince souvent moins colorée, souple.

Les avis sont partagés quant à l'opportunité de cette scission dans la classification du genre. Nous verrons dans les chapitres qui vont suivre, ce qu'il faut en penser.

Afin de faciliter l'exposé du sujet, je vais tout de suite analyser la structure de la membrane chez les *Closterium*.

I. — *Closterium* dits « à ceintures (1) » : type *Cl. angustatum*.

Examinons une population de *Closterium angustatum*. Nous aurons peut-être la chance de rencontrer d'assez nombreuses cellu-

(1) Les mots « ceinture », « ceinture intercalaire » ont été jusqu'ici employés par les auteurs français pour désigner l'accroissement de certains *Closterium* en dehors de toute division. J'estime que le mot ceinture, qui évoque en somme quelque chose d'assez étroit, s'applique mal aux élongations des *Closterium* dont la longueur atteint toujours le tiers ou le quart de la cellule. De plus, l'expression « ceinture intercalaire » ne signifie pas grand chose : elle manque de précision ; j'ai donc réservé le nom de ceintures aux espaces très étroits qui séparent les sutures groupées (Cf. fig. 1) et j'ai substitué à l'expression « ceintures intercalaires » celle de « zones d'élongation ».

Afin d'éviter toute confusion, j'ai toujours employé le mot ceinture entre guillemets lorsque je l'ai utilisé dans le sens des auteurs précédents.

les vides qui laisseront aisément voir leur structure. Sinon, nous utiliserons la technique suivante : (1)

1° Etaler sur une lame quelques gouttes de la récolte préalablement fixée par le formol. Laisser sécher complètement.

2° Laver le frottis à l'eau distillée. Laisser sécher à nouveau.

3° Plonger la lame dans le xylol ou le toluène pendant quelques minutes.

4° Retirer la lame, essuyer l'excès de xylol, recouvrir de baume de Canada qu'on fera épaissir ensuite en chauffant doucement.

5° Placer la lamelle sur le baume encore chaud.

Cette technique, qui peut paraître brutale pour des organismes aussi fragiles que des Desmidiées, se révèle cependant très suffisante

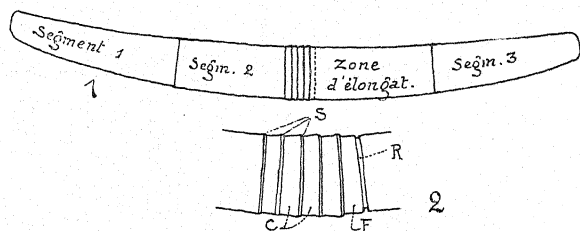


Fig. 1 et 2. — *Closterium* théorique. — 1, schéma montrant les différents segments d'âge différent après une elongation : le segment 1 est le plus âgé ; la zone d'elongation est la plus jeune. — 2, détail des sutures centrales : S, sutures ; C, ceintures ; F, fausse ceinture ; R, sillon de rupture.

pour les *Closterium* « à ceintures » dont la membrane épaisse est très peu déformable. Le contenu cellulaire devient très transparent et permet d'observer facilement tous les détails de structure.

Cette membrane est colorée, mais souvent d'une façon non homogène. Elle est divisée en un nombre variable de segments qui semblent rattachés les uns aux autres par des bourrelets annulaires transversaux. Ce sont les sutures (fig. 1). L'ornementation et les perforations de la membrane sont toujours interrompues sur ces sutures.

Plusieurs sutures (jusqu'à 18 ou 20) sont souvent rassemblées

(1) Il peut parfois être utile de colorer pour confirmer certaines observations effectuées sur le vivant. Je conseille vivement l'azurine brillante alcalinisée par la potasse et employée à chaud. Ce colorant met admirablement en évidence les membranes jeunes des *Closterium* et en particulier les nouvelles zones d'elongation.

en un point de la membrane, ordinairement au voisinage du centre, mais parfois aussi vers une extrémité. Ces sutures laissent entre elles des espaces très étroits (dans certains cas cependant assez larges). Ce sont les ceintures (fig. 3 à 7).

Il existe parfois deux ou plusieurs groupes distincts de sutures — donc aussi de ceintures — sur la même membrane.

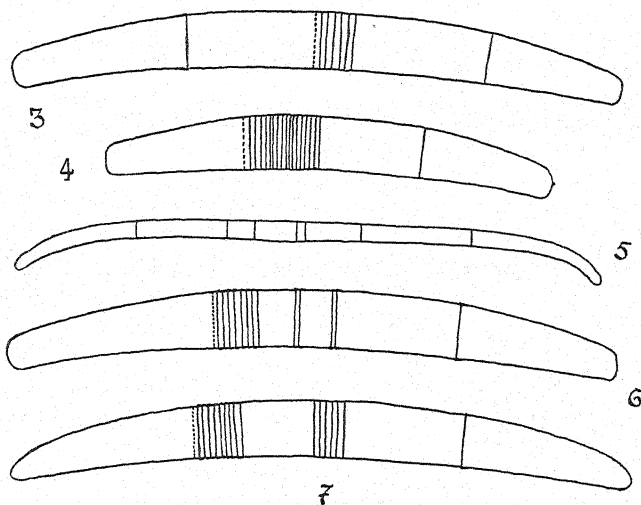


Fig. 3 à 7. — Différentes positions des sutures ou des groupes de sutures sur la membrane cellulaire. — 3 et 4, disposition régulière des sutures chez un individu venant de subir une élongation et chez un autre individu après division. — 5 à 7, sutures ou groupes de sutures espacés par le fait de « sauts » anormaux du sillon de rupture.

Il est des individus (rares) qui ne possèdent encore aucune ceinture.

Sur toutes les cellules mortes ou fixées se trouve une pseudo-suture qui, au lieu de présenter un bourrelet est formée par une étroite gouttière creusant la membrane d'un sillon transversal circulaire. J'appellerai sillon de rupture cette formation de la cellule (Ringfûrche de LÜTKEMÜLLER) Cf. R., fig. 2.

VAN WISSELINGH a remarqué que le sillon de rupture était beaucoup plus apparent sur les individus fixés que sur les individus vivants. Il prétend que, sur le vivant, on remarque seulement une étroite bande claire comme si, à cet endroit, la membrane était

simplement pecto-cellulosique, non imprégnée de sels de fer, mais qu'elle ne porte pas de dépression. J'ai moi-même observé vivantes plusieurs espèces de *Closterium* à ceintures (en cultures brutes) et je dois avouer que, d'une manière générale, le sillon de rupture quoique très net ne forme pas de dépression. Il est probablement comblé par une matière mucilagineuse soluble dans l'eau après la mort de la cellule comme cela a lieu assez souvent, du reste, pour la gelée qui enveloppe certaines algues.

A ce propos, je voudrais formuler quelques remarques sur le

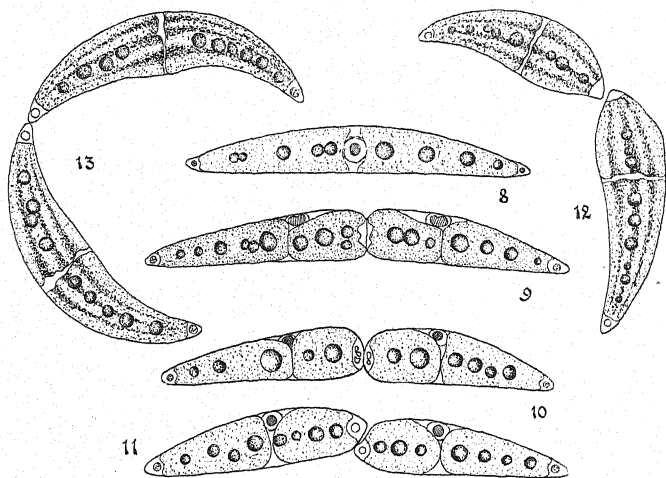


Fig. 8 à 13. — Figures semi-schématiques montrant la position relative des cellules néoformées chez *Closterium acerosum* (8 à 11) et *Closterium moniliferum* (12 et 13); en fin de division, les deux cellules sont en exacte opposition (fig. 13).

comportement des deux cellules-filles au cours de la division des *Closterium*.

J'ai pu suivre maintes fois, en cultures, la division de *Closterium acerosum* et *Cl. moniliferum*. La cloison intérieure qui apparaît au stade de prédivision est perpendiculaire aux parois de la cellule, puis la constriction apparaît au niveau du sillon de rupture (fig. 9 et 10). La cloison intérieure se dédouble et les demi-cellules nouvelles tendent à acquérir leur forme spécifique. Jusqu'ici, rien que de très normal.

Mais un fait assez curieux réside en ce que les deux pointes

mousses des hémisomates néoformés ne se développent pas en opposition, mais bien l'une contre l'autre (fig. 11 et 12). Il n'y a souvent même plus contact entre elles (fig. 12) et cependant, elles adhèrent encore assez solidement l'une à l'autre pour qu'une agitation modérée du milieu ne les puisse séparer. Par la suite, il y a glissement des surfaces adhérentes l'une sur l'autre, car, en fin de division, les deux cellules-filles sont toujours en exacte opposition (fig. 13).

Je ne puis expliquer ces faits que par la production, au moment de la division, d'une substance mucilagineuse assez épaisse sécrétée

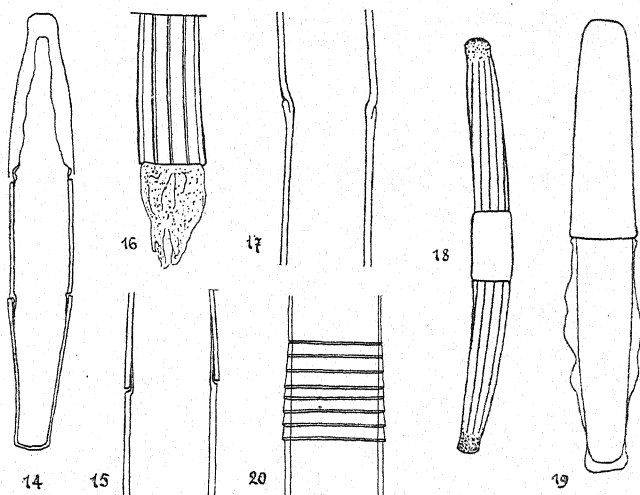


Fig. 14 à 20. — Différents exemples montrant l'existence d'une fine membrane (couche génératrice) tapissant la face interne des *Closterium* et régénérant l'enveloppe cellulaire en épaisseur et ornementation; 20, détail des sutures centrales d'un *Closterium* : l'épaisseur des ceintures est fonction de leur âge.

par le cytoplasme et qui, tout en contribuant peut-être à la constitution de la nouvelle membrane sert de connectif aux deux jeunes cellules.

D'une manière générale, les sutures sont beaucoup moins visibles sur les cellules vivantes que sur les cellules mortes ou fixées et ceci en dehors de toutes considérations d'opacité due aux chromatophores. Il ne serait pas, je crois illogique de supposer qu'une pellicule très mince de mucus recouvre la cellule vivante tout entière. On remarquera, du reste, que les *Closterium* adhèrent souvent éner-

giquement les uns aux autres ou encore aux supports sur lesquels ils ont été placés ou se sont développés.

Lorsqu'une cellule se divise, s'allonge ou se brise, la séparation a toujours lieu au niveau du sillon de rupture.

Il n'y a pas, à proprement parler, cassure de la membrane, mais plutôt désarticulation.

La membrane âgée n'est pas homogène dans toute son épaisseur. La figure 16 nous montre en effet un tronçon de cellule désarticulée d'où s'échappe une fine membrane émanant de la face interne de

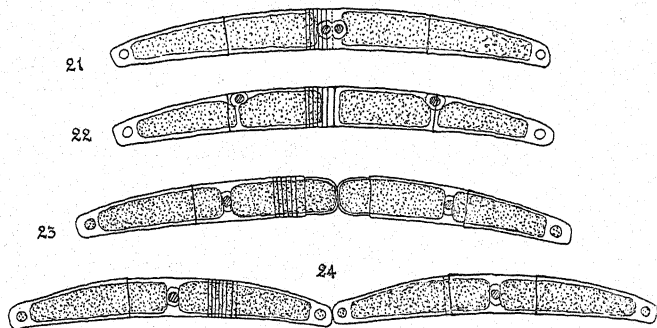


Fig. 21 à 24. — Comportement des sutures pendant la division d'un *Closterium* (schématique) : 21, division nucléaire ; 22, apparition d'une cloison interne au niveau du sillon de rupture ; 23, séparation des deux demi-cellules au niveau du sillon dont chaque bord fournit une nouvelle suture par raccord et soudure des nouveaux hémisomates aux anciens. — 24, apparition d'une fausse ceinture et d'un nouveau sillon de rupture sur les hémisomates néo-formés.

l'hémisomate. Les figures 14, 15, 17, 18, 19, confirment encore cette hypothèse. C'est à LÜTKEMÜLLER, puis à VAN WISSELINGH que l'on doit la première étude sérieuse de la question (1). STEINECKE a ensuite reconnu l'exactitude des observations de ces auteurs. Je ne puis qu'associer mes vues aux leurs, car j'avais fait des observations identiques avant d'avoir eu connaissance de leurs travaux.

La structure de la membrane des *Closterium* est variable et en rapport avec l'âge de la cellule. Au sortir de la zygospore elle est cellulosique ou pecto-cellulosique, fine, homogène, souple. Lorsque

(1) On trouvera, dans les travaux de ces auteurs, les méthodes détaillées d'analyse microchimique de la membrane des *Closterium*.

la cellule a atteint ses dimensions normales, sa membrane commence à s'imprégner de sels de fer, mais cette imprégnation n'a pas lieu d'une façon homogène dans toute son épaisseur. L'imprégnation est maxima à la périphérie et pour ainsi dire nulle vers l'intérieur. Il s'en suit qu'au bout d'un certain temps tout se passe comme si la membrane était formée de deux feuillets, l'un externe, rigide, coloré mais dépourvu de toute faculté d'accroissement; l'autre interne, incolore, vivant, qui prend part à toutes les manifestations de la vie

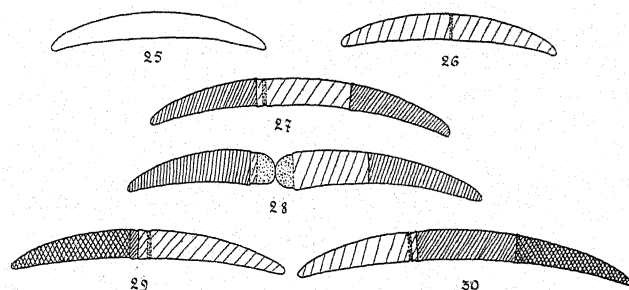


Fig. 25 à 30. — Changement de coloration des membranes par vieillissement (théorique) : 25, membrane fine et incolore au sortir de la zygospore ; 26, épaississement de la membrane et apparition du sillon de rupture ; 27, élongation ; 28, division ; 29 et 30, fin de division : les deux individus portent chacun trois segments d'âge différent.

cellulaire. J'appellerai « couche génératrice » cette dernière formation de la membrane.

Il est évident que cette séparation entre les deux feuillets n'est pas totale et qu'il existe une étroite zone mixte à leur surface de contact. Il est encore possible, et même probable, que la couche génératrice pousse de fins prolongements à travers les pores de la couche périphérique. Des réactions microchimiques nous renseigneront peut-être un jour sur ce point.

La différenciation entre les deux feuillets est d'autant plus prononcée que la membrane est plus âgée et on peut observer, dans la nature, tous les stades de passage depuis la membrane franchement homogène (cellule très jeune) jusqu'à la membrane nettement hétérogène (tronçons de cellule âgée). Nous verrons plus loin le rôle important joué par la couche génératrice au cours des phénomènes de division et d'élongation.

II. — Division et élongation.

Au cours de ce chapitre, je suis évidemment conduit à envisager le mode d'accroissement de la membrane.

Comme VAN WISSELINGH, je suis d'avis que ni la théorie de l'intussusception, ni celle de l'apposition ne peuvent séparément

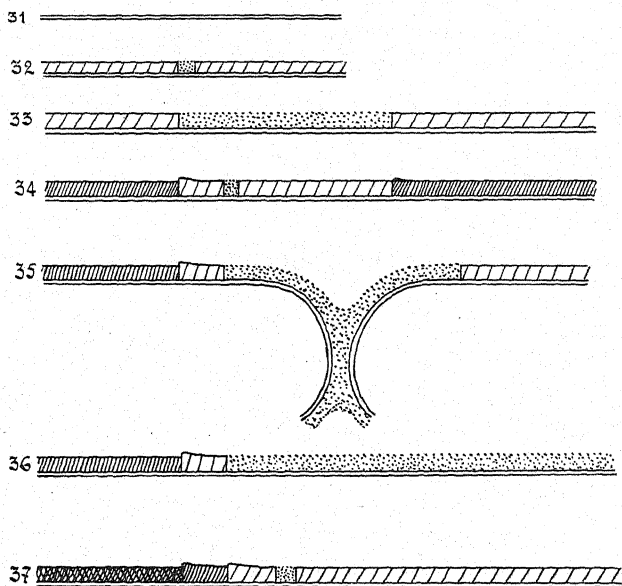


Fig. 31 à 37. — Comportement de la membrane d'un *Closterium* pendant l'élongation et la division : 31, membrane fine au sortir de la zygospore ; 32, apparition du sillon de rupture et dégagement de la couche génératrice ; 33, élongation ; 34, régénération de la membrane dans la zone d'élongation, apparition d'un nouveau sillon de rupture, d'une fausse ceinture et d'une suture ; 35 et 36, division ; 37, régénération par la couche génératrice de l'hémisomate néoformé ; apparition d'un nouveau sillon de rupture, d'une nouvelle suture et d'une fausse ceinture : l'ancienne fausse ceinture devient ceinture vraie.

expliquer les phénomènes auxquels nous assistons pendant la formation des membranes nouvelles. Seule une combinaison des deux théories nous permet de donner une solution satisfaisante aux problèmes posés : les membranes fines s'accroissant par intussusception et se superposant ensuite par apposition donnent les membranes épaisses.

a) *Division.*

Considérons par exemple le *Closterium* figuré schématiquement (fig. 21) et prêt à se diviser. Le processus suivant s'établit souvent (pas toujours !) :

Division nucléaire — passage des noyaux fils au milieu de chaque hémisomate et apparition d'une cloison transversale au niveau du sillon de rupture (les bords de cette cloison sont soudés à la cou-

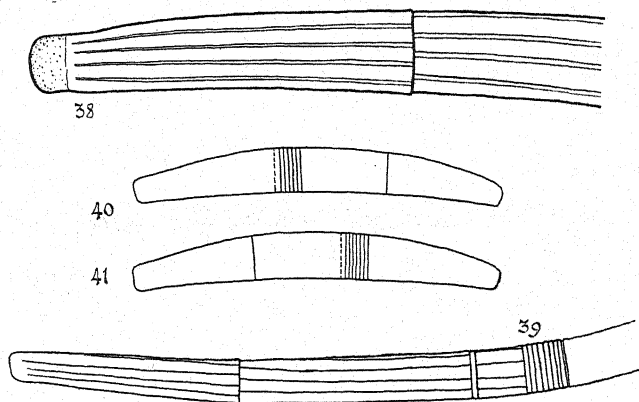


Fig. 38 à 41. — 38 et 39, figure montrant la discontinuité de l'ornementation sur les différents segments de *Closterium angustatum*; 40, disposition de segments et de sutures rencontrée communément dans la nature; 41, disposition extrêmement rare des segments, des sutures et du sillon de rupture.

che génératrice). Division des chloroplastes à hauteur des nouveaux noyaux et éloignement progressif des hémisomates anciens — régénération totale des hémisomates jeunes (formés par la couche génératrice) en dimensions, épaisseur et ornementation — soudure de l'hémisomate jeune à l'hémisomate ancien par apport localisé de substance fournie par la couche génératrice — apparition simultanée d'une suture (à la jonction des deux demi-cellules) d'une fausse ceinture et d'un nouveau sillon de rupture (sur le jeune hémisomate). Fig. 21 à 24 et 31 à 37.

b) *Élongation.*

Il n'y a pas division de la cellule, mais seulement allongement (fig. 27, 33, 34).

Le noyau ne subit pas de division. Il y a simplement écartement des deux hémisomates sans apparition de cloison transversale au niveau du sillon de rupture ; la couche génératrice s'allonge en tube et supporte toujours les hémisomates anciens. Le nouveau segment de membrane ainsi intercalé se soude aux anciens par un procédé identique à celui qui a été décrit pour la division. Il y a apparition de deux sutures, d'une seule ceinture et d'un seul sillon de rupture.

J'appellerai zone d'élongation le segment de membrane intercalé entre les deux hémisomates anciens. Nous pourrions observer (fig. 38, 39) que l'ornementation de la zone d'élongation, régénérée par la couche génératrice, ne continue pas obligatoirement celle des hémisomates, que sa coloration est plus faible et son épaisseur moindre.

III. — Théorie de Lutkemuller.

Examinons les tableaux A et B (fig. 42) qui accompagnent le travail de LÜTKEMÜLLER et que j'ai reproduits ici.

Le tableau A représente la division d'un *Closterium* ne possédant pas la faculté de s'accroître par élongation. La cellule *a*, issue d'une zygospore, ne présente pas de suture, mais seulement un sillon de rupture. Elle se divise en donnant deux individus *b*₁, *b*₂ portant chacun deux hémisomates d'âge différent, une fausse ceinture, une suture et un sillon de rupture.

Ces deux cellules se divisent à leur tour en donnant quatre individus : *C*₁, *C*₄ portant chacun deux sutures, une ceinture vraie, une fausse ceinture, un sillon de rupture et *C*₂, *C*₃, portant chacun une suture, une fausse ceinture et un sillon de rupture.

A la troisième génération (fig. *d*₁ à *d*₈) on compte deux individus à trois sutures (ayant subi trois divisions), deux individus à deux sutures (ayant subi deux divisions) et quatre individus à une suture (ayant subi une seule division). Théoriquement, dans les espèces du groupe A, le nombre de sutures portées par une cellule indique donc le nombre de divisions qu'elle a subies.

Le tableau B représente le cycle parcouru par un *Closterium* doué de la faculté d'élongation.

La cellule figurée en *a*, est issue d'une zygospore. Elle ne porte pas de suture mais un sillon de rupture. Elle commence par subir

une énorme élongation (fig. a^*) qui double ses dimensions. Elle porte alors deux sutures terminales, une zone d'élongation et un sillon de rupture occupant le centre de la zone d'élongation.

La cellule a^* se divise alors en donnant deux individus portant

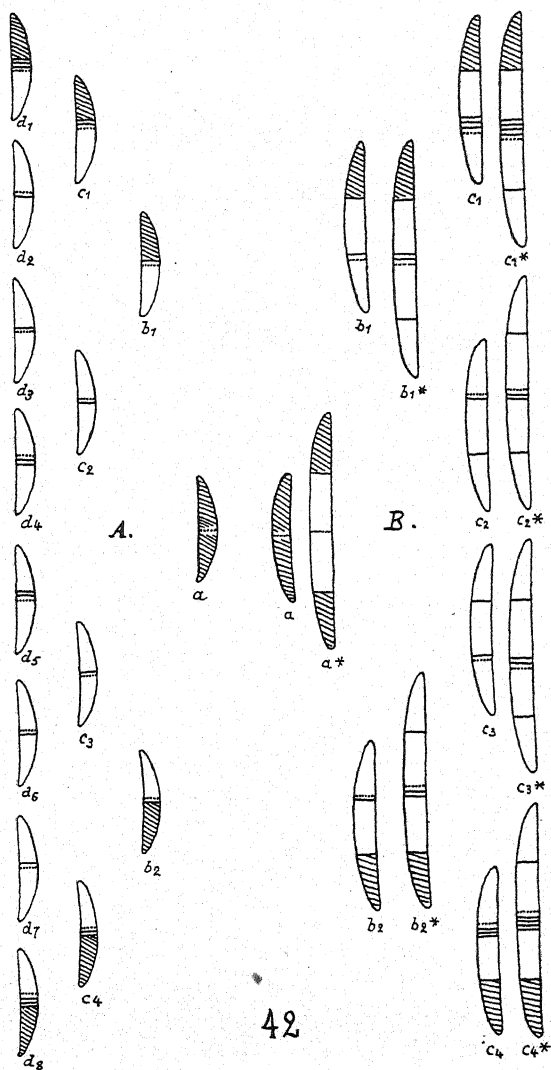


Fig. 42. — Mécanisme de la succession des divisions et élongations chez les *Closterium* d'après LÜTKEMÜLLER.

chacun deux sutures terminales, une fausse ceinture et un sillon de rupture. Ces deux individus subissent ensuite une élongation. Une des sutures terminales devient centrale et se double d'une seconde suture avec formation d'une ceinture vraie. Il y a, en outre, apparition d'une nouvelle suture terminale et d'un nouveau sillon de rupture avec interposition sur la zone d'élongation d'une fausse ceinture. Chaque cellule porte quatre segments d'âge différent marqués par des teintes plus ou moins foncées de la membrane (imprégnation plus ou moins avancée de sels de fer).

Ces deux cellules allongées se divisent à leur tour. Les sutures centrales deviennent à nouveau terminales. Il y a addition d'une suture nouvelle, d'une ceinture vraie, d'une fausse ceinture, d'un sillon de rupture sur les individus C_1 , C_4 et apparition d'une suture, d'une fausse ceinture et d'un sillon de rupture sur les individus C_2 , C_3 .

De la théorie de LÜTKEMÜLLER on peut donc déduire que, chez les *Closterium* capables d'élongation :

1° Chaque division est précédée d'une élongation.

2° Toute division ou élongation se traduit sur la cellule par l'apparition de lignes de suture nouvelles.

3° Le nombre de divisions effectuées par la cellule peut être déduit du nombre de sutures portées par la membrane ;

4° Tout individu tel que b^*_1 , b^*_2 , c^*_1 , c^*_2 , c^*_3 , c^*_4 (fig. 42 tabl. B) formé de quatre segments d'âge différent, porte *au minimum* deux sutures centrales, une ceinture vraie, une fausse ceinture et un sillon de rupture.

5° Tout individu tel que b_1 , b_2 , c_1 , c_2 , c_3 , c_4 formé de trois segments d'âge différent porte *au minimum* deux sutures terminales, une fausse ceinture et un sillon de rupture.

6° L'intensité de teinte de la fausse ceinture est toujours la même que celle du segment sur lequel elle a été prélevée (soit zone d'élongation, soit hémisomate régénéré).

IV. — Critique de la théorie de Lutkemuller.

Cette théorie ne satisfait pas entièrement l'esprit et ceci pour les motifs suivants :

1° Il est, pour le moins, bizarre que la cellule issue d'une zygospore donne immédiatement une élongation double de celles qu'elle

donnera ultérieurement et que le sillon de rupture se place constamment au centre de cette zone d'élongation.

LÜTKEMÜLLER lui-même n'a pas la preuve matérielle que les choses se passent comme il le dit puisqu'il écrit : « Fraglich könnte nur die Art der Entstehung der ersten Gürtelbandes sein. Höchst wahrscheinlich kommt dasselbe, wie in Tafel 20, Gruppe B, Fig. a* dargestellt, in der Weise zu stande, dass der Keimling zunächst zwischen seine Schalstücke ein Gürtelband einschaltet, welches doppelt so lang ist, als die später gebildeten, und in seiner Mitte eine Ringfurche erhält ».

Je sais que cette supposition est indispensable pour expliquer le fait que, dans la nature, on trouve *presque* toujours les *Closterium* à ceintures sous le schéma sutural figuré en 40 et très rarement au contraire sous celui de la fig. 41. Je donnerai plus loin, au cours de l'exposition d'une nouvelle théorie, l'explication de ce phénomène.

2° Si avec LÜTKEMÜLLER nous admettons que chaque division ou élongation provoque obligatoirement l'apparition de certaines sutures, nous sommes conduits à des conclusions assez curieuses quant à la biologie des *Closterium*.

Le maximum du nombre des sutures groupées observées sur les *Closterium* dits « à ceintures » est d'une vingtaine. Si nous admettons avec LÜTKEMÜLLER qu'une élongation précède toujours une division et que ces deux phénomènes provoquent séparément l'apparition d'une suture centrale, nous sommes conduits à imputer $\frac{20}{2} = 10$ sutures au phénomène de division. Autrement dit, le maximum des divisions possibles du *Closterium* le plus âgé actuellement observé aurait été de dix. Un *Closterium* issu d'une zygospore et se divisant par exemple tous les cinq jours (ce qui semble du reste une fréquence assez faible surtout en période d'été) vivrait au maximum cinquante jours et devrait théoriquement mourir lorsque sa lignée aurait atteint 1.024 individus.

Que penser alors de la « longévité » des espèces chez qui le maximum observé n'est que de dix ou douze sutures centrales et qui par conséquent devraient s'éteindre après cinq ou six divisions ?

On pourra objecter que des cellules ne pouvant plus se diviser ne meurent pas obligatoirement, qu'elles peuvent donner des zygospores et reprendre au début leur cycle évolutif. Mais alors, on trou-

verait couramment des zygospores dans toutes les récoltes de *Closterium* « à ceintures » et ceux qui observent les Desmidiées savent que ce n'est pas le cas.

V. — Observations infirmant la théorie de Lutkemuller.

J'ai donc cru devoir vérifier dans la nature ou dans mes cultures les observations de LÜTKEMÜLLER.

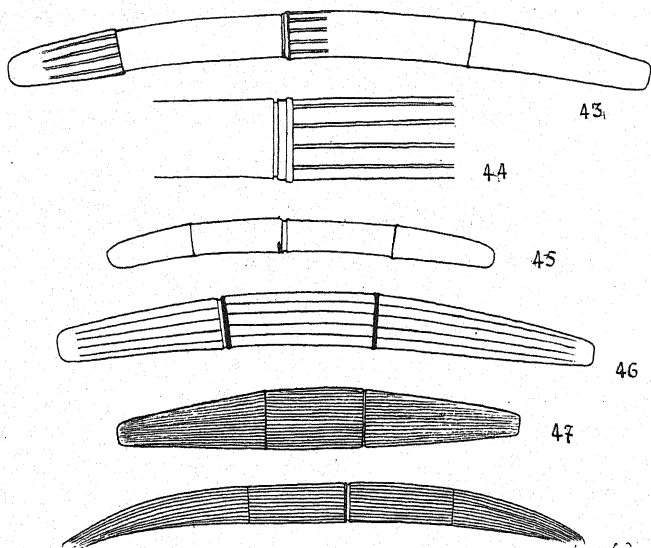


Fig. 43 à 48. — Exemples infirmant la théorie de LÜTKEMÜLLER. — 43, cellule portant quatre segments d'âge différent et qui devrait théoriquement présenter, au minimum, deux sutures centrales, une ceinture vraie, une fausse ceinture et un sillon de rupture ; en réalité (détail fig. 44) la cellule ne porte qu'une seule suture, une fausse ceinture et un sillon de rupture ; 45, *Closterium* à quatre segments ne présentant qu'une suture et un sillon de rupture ; 46, *Closterium* à trois segments auquel il manque une fausse ceinture ; 47, *Closterium* à trois segments ne présentant qu'un sillon de rupture et auquel il manque par conséquent, une suture et une fausse ceinture, 48, *Closterium* à quatre segments auquel il manque une suture, une ceinture vraie et une fausse ceinture.

Si quelques-unes d'entre elles se sont trouvé confirmées, l'ensemble de la théorie est au contraire nettement en désaccord avec les faits :

1° Le sillon de rupture apparaissant toujours sur le segment néoformé, ceci implique une identité absolue de teinte et d'épaisseur

entre la fausse ceinture et le segment qui la porte. Or, ce fait est loin de se vérifier sur tous les individus, quelle que soit l'espèce à laquelle ils appartiennent : la fausse ceinture est très souvent plus épaisse et plus foncée que le segment néo-formé. Elle ne lui appartient donc pas et ceci prouve qu'il n'y a pas obligatoirement formation d'une suture et d'une ceinture à chaque division ou élongation.

2° Sur une cellule *jeune*, il est très aisé d'établir, d'après la théorie de LÜTKEMÜLLER, le nombre de divisions et d'élongations subies par cette cellule. On peut déduire ce nombre soit du décompte et de l'emplacement des sutures, soit de la teinte et de la disposition

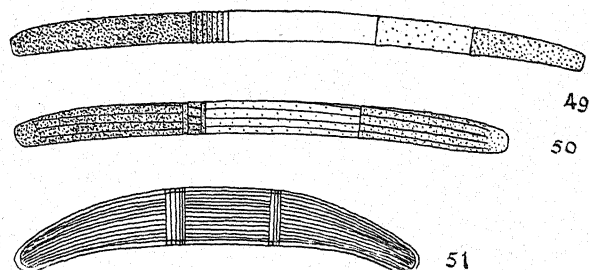


Fig. 49 à 51. — *Closterium* rencontrés dans la nature et dont le schéma sutural en combinaison avec les segments colorés infirme encore la théorie de LÜTKEMÜLLER ; d'après cet auteur, il est en effet impossible de rencontrer, sur une cellule, des sutures groupées succédant immédiatement au segment le plus âgé. Fig. 49 et 50, origin. ; 51, d'après West,

des segments colorés de la membrane : cette dernière méthode donnant des résultats absolument indiscutables. Or, il arrive très fréquemment que le nombre de divisions calculé simultanément sur la même cellule par l'un et l'autre procédé donne des résultats différents, le nombre fourni par le décompte des sutures étant toujours inférieur à celui fourni par l'examen des segments (fig. 43 à 48).

Ceci prouve une seconde fois qu'il n'y a pas formation d'une suture et d'une ceinture à chaque division ou élongation.

3° D'après la théorie de LÜTKEMÜLLER, il est manifestement impossible de rencontrer une cellule sous le schéma sutural figuré en 49, 50, 51 et caractérisé par l'emplacement d'un groupe de sutures à l'extrémité du segment le plus âgé. Or, ce schéma se rencontre dans la nature, *très rarement* il est vrai (nous verrons plus loin pourquoi) mais avec certitude. Il a même été figuré par G.S. WEST (Contrib. to

the Freshw. Alg. of. Ceylan) et tout récemment par BISWAS (Observ. on alg. coll. from Khasia...).

Ceci infirme encore une fois la théorie de LÜTKEMÜLLER.

4° On peut remarquer que certaines espèces douées de la faculté d'élongation (*Closterium angustatum* par exemple) se rencontrent à peu près avec la même fréquence sous les schémas de sutures des figures 52 et 53, tandis que d'autres (*Cl. striolatum*) se rencontrent beaucoup plus souvent sous le schéma 53 que sous le schéma 52.

Cette affirmation n'est pas toute gratuite. Elle repose sur les observations suivantes :

J'ai choisi une récolte de *Closterium striolatum* dans laquelle les cellules à quatre segments me paraissaient particulièrement

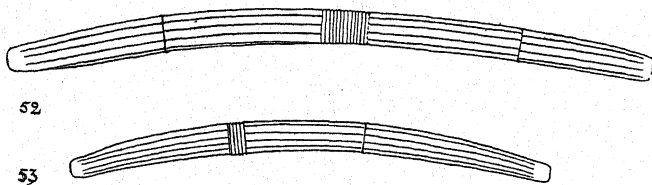


Fig. 52 et 53. — *Closterium angustatum*, espèce chez laquelle une élongation alterne à peu près régulièrement avec une division : le nombre des cellules à trois ou quatre segments est à peu près égal dans toutes les populations.

abondantes. J'ai compté les cellules à trois et à quatre segments contenues dans une préparation tirée de cette récolte. J'ai trouvé 60 cellules à trois segments (donc ne présentant pas de zone d'élongation) contre 26 cellules à quatre segments (présentant par conséquent une zone d'élongation). Le pourcentage des cellules allongées n'était donc environ que de 30% contre 70% de cellules courtes à trois segments.

Par contre, dans une récolte à *Clost. angustatum*, sur 112 cellules examinées, 51 possédaient une zone d'élongation et 61 seulement en étaient dépourvues.

Certains auteurs et moi-même avons remarqué que le nombre des cellules à trois ou quatre segments était variable chez une même espèce suivant les localités.

LAPORTE écrit en effet : « Dans les tourbières du Plenay et des Gets, j'ai rencontré souvent des populations de *Closterium Cynthia*,

où la majorité des individus possédaient deux ceintures intercalaires au lieu d'une seule...

Closterium Cynthia, en résumé, présente donc, comme *Cl.*

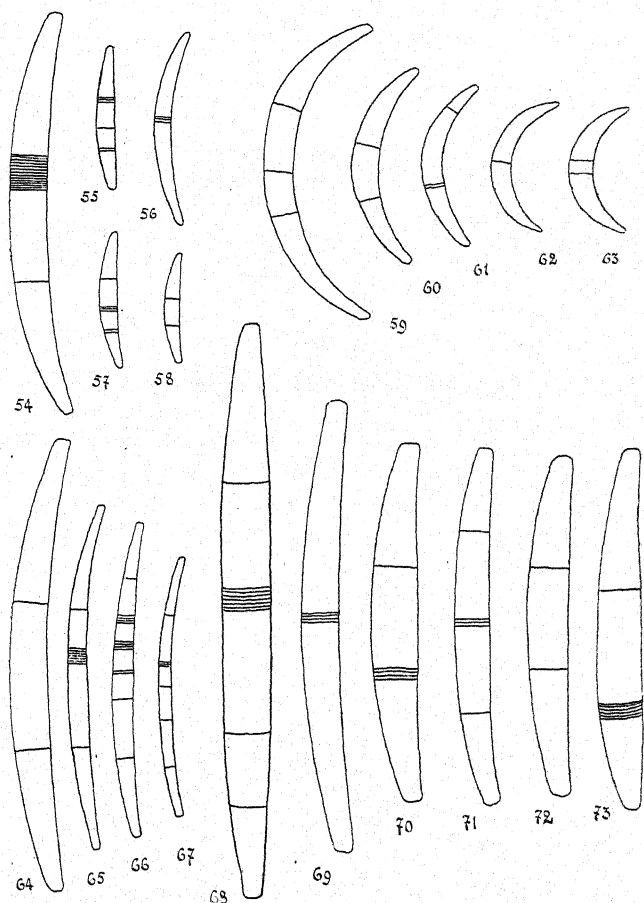


Fig. 54 à 73. — *Closterium striolatum*, *Cl. intermedim*, *Cl. didymotocum*, *Cl. Cynthia*, espèces chez lesquelles le nombre des segments est très variable suivant les populations: plusieurs divisions ou plusieurs elongations pouvant avoir lieu successivement (figures tirées de WEST et de GRÖNBLAD).

turgidum, *Cl. intermedium*, *Cl. striolatum* des divisions précédées ou non de la croissance de la deuxième ceinture intercalaire ».

G.S. WEST (*Algae*. Vol. I, p. 369), remarque également que tou-

tes les divisions ne sont pas obligatoirement précédées d'une élongation. Il écrit :

« The scheme depicted is an ideal one, representing the growth of a new girdle-band after each division, but as a matter of fact this rarely happens, and many divisions may take place without the addition of a new girdle-band ».

En admettant même (et ceci contre la théorie de LÜTKEMÜLLER) que des *Closterium* à ceintures puissent subir plusieurs divisions successives sans élongation, ce phénomène reste inexplicable, par la théorie actuelle, car il aboutirait, d'après le processus des fig. 81 à 84, à la formation d'un nombre considérable de cellules présentant le schéma sutural (fig. 49, 50, 51), ce qui est manifestement contraire à ce qu'on observe dans la nature.

Comment toutes ces anomalies peuvent-elles s'expliquer ? Par le simple fait que le sillon de rupture ne se forme pas toujours à l'emplacement que lui a assigné LÜTKEMÜLLER, mais qu'il est au contraire doué d'une grande mobilité. Enfin, parce qu'une division n'est pas *obligatoirement* précédée d'une élongation chez les *Closterium* « à ceintures ».

VI. — Déplacement du sillon de rupture.

J'ai recherché, dans de nombreuses récoltes ainsi que dans la littérature, des exemples propres à appuyer cette théorie de la mobilité du sillon de rupture. Je les ai facilement trouvés.

Les figures 74 à 79 montrent quelques exemples typiques : en 74, on voit figuré un *Closterium* normal venant de donner une division avec sillon de rupture placé contre les sutures groupées. Après élongation (fig. 75), le sillon de rupture a « sauté » contre la suture terminale au lieu de se placer auprès des sutures groupées. Ceci provoquera au cours des élongations et divisions ultérieures la formation d'un second groupe de sutures comme le montrent les figures 76 et 77.

Il arrive parfois que le sillon de rupture « saute » immédiatement après la formation de la première suture centrale (fig. 78 et 79). On a alors des cellules comportant un nombre anormal de segments. C'est ce qui s'est passé pour le *Closterium* figuré en 68 et tiré

de GRÖNBLAD, pour qui cet auteur a créé sans raison une forme nouvelle : *Cl. didymotocum fa. maxima*.

On trouvera, d'autre part, dans les figures 54 à 73 tirées des travaux de différents algologues, de nombreux exemples propres à confirmer ces vues sur la mobilité du sillon de rupture.

En résumé, le sillon peut apparaître en un point quelconque d'un segment néoformé et déterminer par suite des sutures ou des groupes espacés de sutures. Il n'est donc pas déraisonnable de supposer qu'il peut également se reformer tout contre une suture ancienne (fig. 45, 46, 48). Ceci explique immédiatement pourquoi

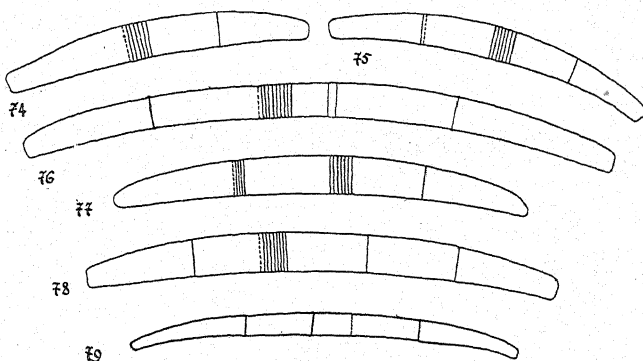


Fig. 74 à 79. — Explication des anomalies (groupes de sutures espacés, nombre anormal de segments) par la théorie des « sauts » du sillon de rupture.

il n'y a pas, dans ce cas, formation d'une fausse ceinture ni d'une nouvelle suture centrale au moment de l'élongation ou de la division, pourquoi la teinte de la fausse ceinture n'est pas toujours la même que celle du segment qui semble la porter (et auquel elle n'appartient pas en réalité !), pourquoi le nombre des divisions déduit du nombre des sutures est inférieur au nombre des divisions déduit de l'examen des segments colorés et enfin, pourquoi il est absolument impossible de déduire « l'âge physiologique » d'une cellule du nombre des sutures groupées portées par la membrane.

Les combinaisons possibles entre les deux phénomènes division et élongation conditionnées par la position du sillon de rupture sont donc énormes et il ne faut nullement s'étonner d'observer, sur de multiples cellules, des sutures aberrantes par leur groupement, par leur nombre ou par leur position.

Reste maintenant à expliquer le mécanisme par lequel des *Closterium* à trois segments (fig. 74) peuvent donner immédiatement d'autres *Closterium* à trois segments sans élongation préalable ou, comme disent certains auteurs, sans croissance de la « deuxième ceinture intercalaire ».

Une observation importante, faite dans des cultures, va me permettre d'envisager une explication : les hémisomates néoformés au cours d'une division sont souvent inégaux et de dimensions parfois très différentes des hémisomates anciens. Ils sont plus petits lorsque le milieu de culture leur convient mal ; plus grands lorsque le milieu est très favorable.

Ce phénomène, combiné avec la mobilité du sillon de rupture, me conduit à donner l'explication suivante du phénomène envisagé plus haut :

a) La division d'une cellule à trois segments (fig. 85) fournit deux hémisomates régénérés inégaux (fig. 86, 87).

b) le sillon de rupture, au lieu de se placer près de la suture terminale S, se place en R, formant ainsi, de suite, une cellule à trois segments sans élongation préalable.

En un mot, tout se passe comme s'il y avait eu simultanément division et élongation avec en moins la formation d'une suture due à une élongation séparée.

Cette théorie est-elle en contradiction avec les observations faites dans la nature ? Nullement. Les cellules, telles que le *Closterium striolatum* figuré en 47, ne sont pas rares et les auteurs en ont figuré un nombre considérable (fig. 58, 60, 64, 72) chez de nombreuses espèces différentes.

VII. — Théorie générale de la division chez les *Closterium*.

Je vais maintenant préciser le processus qui s'établit lors de la division des *Closterium* dans l'état actuel de nos connaissances.

Cycle théorique complet.

Une cellule (1, fig. 80) étant issue d'une zygospore présente une membrane incolore divisée en deux hémisomates (a) par un sillon de rupture.

Cette cellule subit une élévation. Il y a alors apparition d'une zone jeune (*b*), de deux sutures et d'un nouveau sillon de rupture

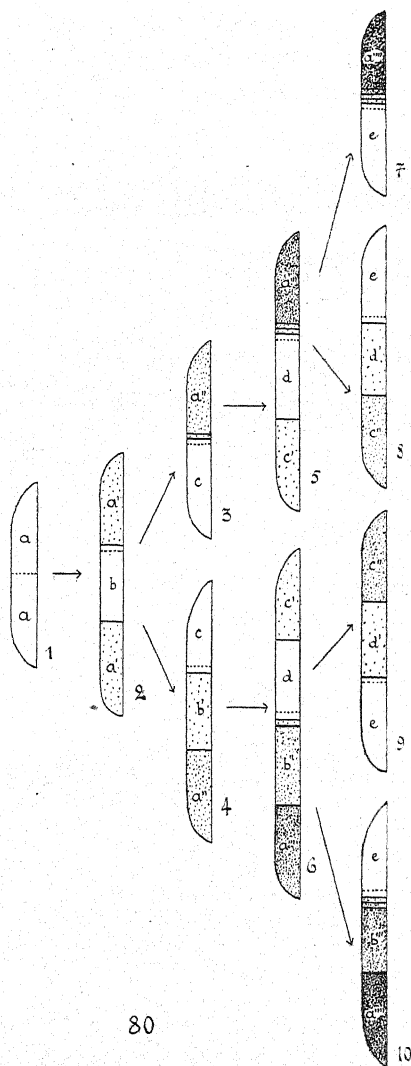


Fig. 80. — Nouvelle théorie de la succession des divisions et élévements, montrant la possibilité de formation d'individus tels que 7. La cellule figurée en 1 étant supposée issue d'une zygospore, on remarquera qu'il n'existe qu'une seule cellule telle que 7 par clone, ce qui explique leur extrême rareté dans la nature.

placé auprès de l'une des sutures (et non plus au centre d'une zone de double élancement comme le croyait LÜTKEMÜLLER). Les deux hémisomates (*a*) commencent à se colorer. La première division se produit alors et les deux cellules-filles sont de dimensions inégales. L'une d'elles (3 fig. 80) ne possède qu'un seul segment dans sa partie la plus âgée et conserve cette particularité toute sa vie (1) (5, 7, fig. 80).

L'autre possède le schéma sutural normal et trois segments d'âge différent. A'', le plus âgé est naturellement le plus foncé ; b'

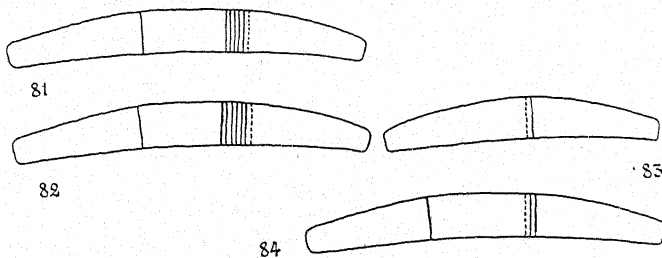


Fig. 81 à 84. — Schéma montrant qu'il est impossible à une cellule à trois segments provenant d'une division (81) de redonner immédiatement, par nouvelle division et d'après les théories actuellement admises, une nouvelle cellule à trois segments (82) sans aboutir à la formation d'individus tels que 84. Or, chez certaines espèces, le pourcentage des cellules à trois segments étant toujours très supérieur au nombre des cellules à quatre segments et celui des cellules telles que 84 étant absolument infime, il faut admettre pour ces espèces des possibilités spéciales.

est moyennement coloré et c', le segment néoformé, est presque incolore.

Ce cycle théorique se poursuit ainsi, une élancement alternant avec une division, chaque élancement ajoutant à la cellule deux sutures nouvelles : une centrale et une terminale (2, 5 et 6 fig. 80) tandis que chaque division n'ajoute qu'une suture nouvelle (3, 4, 7, 8, 9, 10 fig. 80).

(1) Pour toute la lignée issue d'un seul *Closterium*, lignée dont le nombre atteint théoriquement plus de 16.000 individus au bout de 15 générations, il n'existe qu'une seule cellule de ce type. C'est cette rareté qui a induit LÜTKEMÜLLER en erreur et lui a suggéré l'idée du sillon de rupture central apparaissant sur une élancement double des élancements suivantes.

Cycles réels.

Ce processus, essentiellement théorique, subit pratiquement de nombreuses modifications provoquées par l'influence des conditions biologiques locales, la différence de comportement des espèces (plus ou moins grande tendance à l'élongation), la mobilité du sillon de rupture (provoquant l'absence de nombreuses sutures), etc...

Plusieurs cas peuvent donc se présenter suivant qu'on considère

a) une espèce ne subissant qu'accidentellement des élongations (*Cl. acerosum*) : des sutures groupées apparaissent seules au voisinage du centre de la cellule qui ne porte que deux segments.

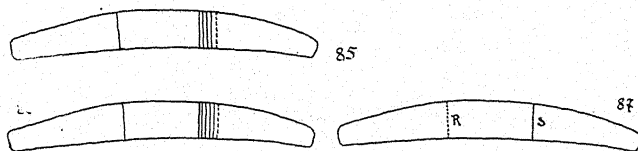


Fig. 85 à 87. — Explication possible de la génération de deux cellules à trois segments par divisions successives : la cellule 85 à trois segments, issue d'une division, se divise à nouveau et donne un individu jeune, 87, dont l'hémisomate néoformé est très grand. Le sillon de rupture au lieu de se placer contre S (fig. 87) saute en R. Il y a en somme division et élongation simultanées.

b) une espèce subissant assez fréquemment des élongations (*Cl. Cynthia*) : les cellules se présentent souvent à deux et trois segments, rarement à quatre.

c) une espèce subissant très souvent des élongations (*Cl. striolatum*) : le nombre des cellules à trois segments domine par le fait du mécanisme décrit précédemment (fig. 85 à 87) mais le pourcentage des membranes à quatre segments devient déjà assez élevé tandis que celui des membranes à deux segments est nul.

d) une espèce chez laquelle divisions et élongations alternent régulièrement (*Cl. angustatum*) : il y a alors presque égalité entre les cellules à trois et à quatre segments.

Théoriquement, il ne devrait jamais y avoir égalité entre ces deux catégories d'individus puisque, d'après le cycle idéal (fig. 80) toutes les cellules se divisent collectivement et portent alors toutes trois segments (moins une) ou bien toutes les cellules s'allongent ensemble et portent alors quatre segments (moins une). Mais il

suffit aussi, théoriquement, que les cellules de deux clones d'âge très voisin soient mélangées, celles de l'un étant en élongation pendant que celles de l'autre sont en division, pour que les pourcentages des cellules à trois et quatre segments tendent à s'égaliser.

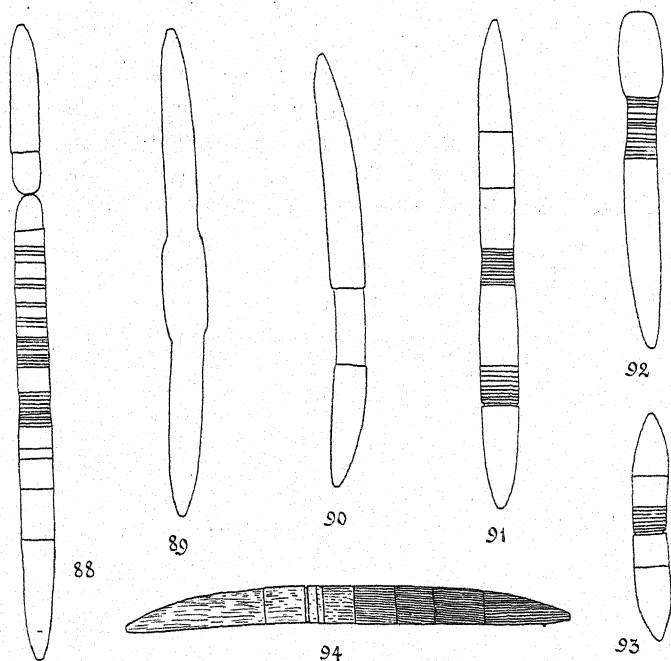


Fig. 88 à 94. — Apparition des sutures, ceintures, segments et zones d'élongation chez *Closterium acerosum* mis dans certaines conditions de culture : 88, individu ayant déjà fourni un grand nombre de divisions et d'élongations comme en témoignent les sutures ; 89 et 90, individus présentant une dilatation ou une constriction de la zone d'élongation (suivant les conditions biologiques du moment) ; 91 à 94, individus présentant comme chez les *Closterium* dits « à ceintures » des anomalies dans le groupement des sutures et le nombre des segments ; 94, *Closterium acerosum* dont les segments les plus âgés sont ornentés de stries parallèles très nettement visibles.

Pratiquement, dans la nature, les causes de mélange des clones sont multiples ainsi que les influences biologiques modifiant la cadence théorique régulière des divisions et élongations. Ce sont ces différents facteurs qui m'ont permis de ne pas tenir compte, dans mes statistiques, des causes d'erreurs dues aux divisions et élongations collectives.

VIII. — Extension de la théorie précédente aux *Closterium* dits « sans ceintures ».

Dans un précédent travail, j'ai montré expérimentalement que les *Closterium* à membrane mince et peu colorée étaient, dans certaines conditions de culture, susceptibles d'élongation. La coloration des membranes vides par le bleu de Crésyle met admirablement en relief les différences d'épaisseur et, par suite, l'âge des segments, les sutures, le sillon de rupture et la zone d'élongation.

L'élongation se manifeste particulièrement lorsque la multiplication cellulaire primitivement arrêtée par suite de conditions biologiques défectueuses se manifeste à nouveau avec exubérance par suite du retour à des conditions très favorables. Les cellules qui s'étaient raccourcies à chaque division tendent alors à reprendre le plus rapidement possible leur taille normale et présentent très souvent des élongations.

Ces alternances de conditions favorables ou défavorables se produisant nécessairement dans les stations naturelles par suite des variations de différents facteurs (température, pH, concurrence) on doit certainement pouvoir observer parfois des élongations sur ces espèces récoltées dans la nature.

*
* *

Au cours des précédents chapitres, j'ai soulevé une question à laquelle je vais maintenant essayer de répondre :

Que deviennent les *Closterium* lorsque leur membrane ne peut plus subir ni élongation ni division ?

En effet, dans la nature, le nombre maximum des sutures groupées observées sur les plus vieilles cellules n'atteint guère plus de vingt. En admettant qu'un nombre assez considérable de divisions et d'élongations n'aient pas provoqué l'apparition de lignes de suture, il faut cependant admettre que la cellule, au bout d'un certain temps, perd la faculté de s'allonger et de se diviser. Est-elle condamnée à mourir ? Je ne le pense pas.

J'ai assisté, dans mes cultures à un phénomène curieux, à un mode spécial de division au cours duquel les nouvelles cellules se libèrent entièrement de la membrane maternelle. Il y a, en quelque

sorte, à la fois division et mue : le cytoplasme et les chloroplastes se divisent sous la membrane ancienne. Les deux petites cellules issues de cette division secrètent chacune une membrane entièrement neuve et se libèrent en faisant éclater la membrane maternelle.

Ceci expliquerait en même temps pourquoi on rencontre assez souvent, en plein été, des *Closterium* uniquement pourvus d'un sillon de rupture sans aucune suture, à une époque bien éloignée de celle de la germination des zygospores.

Je ne puis actuellement donner de détails plus complets sur ce nouveau processus de division, car je n'en ai pas suivi tout le cycle.

Un fait est patent : par un mode de division spécial, un *Closterium* peut donner deux individus de son espèce sans utiliser sa propre membrane.

Il y aurait, en quelque sorte, apparition d'un phénomène inverse à celui de la production des auxospores chez certaines Diatomées. Ces Diatomées, diminuant de taille à chaque division, voient leurs dimensions spécifiques maxima rétablies par la formation d'auxospores. Chez les *Closterium*, les dimensions augmentant souvent par addition d'une ceinture à la division ou à l'élongation, il y aurait périodiquement retour à la taille spécifique minima par le phénomène précédent.

A. ANDREESEN a figuré sous la légende « Hemmungs-bildung nach längerer Kultur in Leucin » une division intérieure de *Closterium acerosum* en tous points analogue à celle que je viens de décrire. Il a attribué ce phénomène à l'influence des milieux artificiels. Je ne puis me ranger à cet avis puisque j'ai observé le fait dans des cultures où les cellules se multipliaient fort activement sans aucune réaction morphologique.

*
* * *

Je ne suis pas assez au courant de la systématique des *Closterium* pour tirer, relativement à leur classification, des conclusions précises de tout ce qui précède. Cependant, il me semble qu'une meilleure connaissance de la biologie de ces algues, de leurs « possibilités » ne pourra qu'aider le Desmidiologue dans ses déterminations.

Je ne puis terminer sans dire quelques mots du chapitre intitulé « Quelques remarques sur la division dans le genre *Closterium* »

faisant partie du travail général de LAPORTE sur la biologie et la systématique des Desmidiées.

Ce chapitre repose en effet sur une grosse erreur d'interprétation du texte de LÜTKEMÜLLER.

LAPORTE n'a pas remarqué que, chez les *Closterium* doués habituellement de la faculté d'élongation, chaque élongation provoque théoriquement l'apparition d'une suture centrale nouvelle au même titre qu'une division. LÜTKEMÜLLER est cependant formel, et par ses figures, et par les exemples qu'il donne dans le passage suivant :

« Fischer sah von *Closterium moniliferum*, einer gürtelbandlose Art, ein Exemplar mit neun Querbinden, welches somit neun Theilungen absolvirt hatte, West fand ein Individuum von *Cl. striolatum* mit einem Gürtelband und 20 Querbinden, d.h. es hatte diese zelle sogar elfmal sich getheilt ».

LAPORTE semble même ignorer la présence du « Ringfurche » (sillon de rupture) de LÜTKEMÜLLER, puisqu'il écrit :

« Lorsqu'il n'y a qu'une seule *ligne de suture*, c'est qu'on se trouve en présence d'une cellule qui ne s'est jamais divisée et qui est issue d'une zygospore ». Cette phrase est en contradiction manifeste avec le reste du chapitre. En effet, si Laporte admet qu'une cellule qui ne s'est jamais divisée peut présenter une *suture*, il ne peut imputer ensuite la présence des sutures au phénomène de division ! Toutes ses remarques relatives à l'âge « physiologique » des *Closterium* ainsi que sa statistique sur la longévité de *Cl. angustum* sont donc manifestement erronées.

CONCLUSIONS

Chez les *Closterium* dits « à ceintures », une élongation ne précède pas obligatoirement une division.

La fréquence des élongations est variable suivant les espèces. Elle peut être variable chez une même espèce suivant les conditions biologiques locales.

Les divisions ou élongations ne provoquent pas toujours sur la membrane cellulaire l'apparition de lignes de sutures nouvelles.

On ne peut donc en aucun cas déduire l'âge d'une cellule du nombre des sutures portées par la membrane.

Plusieurs divisions peuvent se succéder sans élongation.

Plusieurs élongations peuvent se succéder sans division.

Le sillon de rupture est mobile et peut déterminer, sur la membrane, l'apparition de groupes distincts de sutures.

L'ornementation d'une zone d'élongation ou d'un hémisomate néoformé ne se raccorde pas obligatoirement à celle des segments anciens.

On peut faire apparaître expérimentalement sur les *Closterium* dits « sans ceintures » des phénomènes d'élongation. Tous les *Closterium* possèdent donc à l'état latent la faculté de s'allonger en dehors des périodes de croissance dues à la division : mais cette propriété se manifeste avec une fréquence très variable suivant les espèces ou suivant les conditions biologiques auxquelles elles sont soumises.

Il n'y a pas lieu de maintenir la division du genre *Closterium* en deux sections systématiques tel que l'avait fait LÜTKEMÜLLER.

Au cours d'un mode de division encore peu connu, observé en cultures, les cellules-filles se forment sans utiliser aucune partie de la membrane maternelle.

Laboratoire de Cryptogamie du Museum.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ANDREESSEN (A.). — Beiträge zur Kenntnis der Physiologie der Desmidiaceen. *Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde*. Jena. 1909.
- BISWAS (K.). — Observations on algal collections from Khasia and Jaintia Hills, Assam, India. (*Hedwigia*, Bd. 74, Heft I. Avril 1934.
- FISCHER (A.). — Ueber die Zelltheilung der Closterien. (*Botanisch. Zeit.* n° 14-17, Leipzig. 1883).
- GRÖNBLAD (R.). — Observationes criticae quas ad cognoscenda *Closterium Didymolocum* Corda et *Closterium Baillyanum* de Breb. *Acta societatis pro fauna et flora Fennica*, 46, n° 5, Helsingfors. 1919.
- GRÖNBLAD (R.). — Finnländische Desmidiaceen aus Keurn. *Acta societatis pro fauna et flora Fennica*, 47, n° 4, Helsingfors. 1919.
- HAUPTFLEISCH (P.). — Zellmembran und Hüllgallerte der Desmidiaceen. *Inaug. Dissert.* Greifswald. 1888.
- HÖFLER (K.). — Über Eisengehalt und lokale Eisenspeicherung in der Zellwand der Desmidiaceen. *Sitzungsberichten der Akademie der Wissensch. in Wien Mathem-naturw. Klasse, Abt. I, Bd. 135, Heft 3-4.* 1926.
- KLEBS (G.). — Über die Organisation der Gallerte bei einigen Algen. *Arch. d. bot. Inst.* Tübingen. 1886-1888.
- KLEBS (G.). — Bewegung und Schleimbildung der Desmidiaceen. *Biol. Zentralbl.*, Bd. 5, 1885.
- LAPORTE (J.). — Recherches sur la Biologie et la Systématique des Desmidiées. *Thèse Doct. Univers.* Paris. 1931.
- LEBLOND (E.). — Recherches sur la morphologie et la cinétique de quelques bio-colloïdes. *Bullet. Biol. de la France et de la Belgique.* T. LXII. 1928.
- LÜTKEMÜLLER (J.). — Die zellmembran der Desmidiaceen. *Beitr. z. Biol. der Pflanzen hrsgb. von f. Cohn*, VIII, 1902.
- MORREN (C.). — Mémoire sur les Clostéries. *Annales des Sciences naturelles*, 2^e série, T. V, 1836, p. 257 à 280 et 321 à 337.
- STEINECKE (W.). — Die Zweischaligkeit im Membranbau von Zygnemalen und ihre Bedeutung für die Phylogenie der Conjugaten. *Botan. Arch.* Bd. 13. Heft 1-2, Janvier 1926, p. 328-339.
- STEINECKE (W.). — Die Gypskrystalle der Closterien als Statolithen. *Botan. Arch.*, Bd. 14, Heft. 3-4, Mai 1926, p. 312-318.
- WEST (G.-S.). — *Algae*. Vol. I. Cambridge. 1916.
- WEST (G.-S. and W.). — A contribution to the Freshwater Algae of Ceylon. *Trans. of the Linn. Soc. of London*, 2nd Ser. Bot. Vol. VI, Part. 3. London 1902.
- WEST (G.-S. and W.). — A monograph of the British Desmidiaceae. Vol. I, London. 1904.

RÉACTIONS DES FRUITS AUX BLESSURES EXPÉRIMENTALES

par M. Roger ULRICH

INTRODUCTION

Les observations réunies dans ce travail ont porté sur une vingtaine d'espèces mais principalement sur les suivantes (1) :

Pêcher (*Prunus Persica Stokes*); Nancy et Bougival.

Abricotier (*Prunus Armeniaca L.*); Bougival.

Cognassier (*Cydonia vulgaris Pers.*); Nancy et Fontainebleau.

Pivoines (*Paeonia corallina Retz.* et *P. arietina Anders.*); Nancy.

Lierre (*Hedera Helix L.*); Bougival.

Groseille (*Ribes Grossularia L.*); Nancy et Bougival.

Iris (*I. pallida Lam.*); Bougival et Paris (Museum).

C'est sur la pêche que j'ai accumulé le plus d'observations. L'année 1935 que je comptais consacrer à des vérifications diverses sur matériel vivant n'a favorisé le développement d'aucun fruit de lierre, abricotier ou cognassier dans les jardins où j'effectuais d'ordinaire mes récoltes; seules les pêches se sont développées normalement.

Sauf indication contraire, les blessures tangentielles ou transversales, de surface plane, correspondent à l'ablation de fragments importants de fruits (2); les lésions ont été effectuées avec les lames

(1) A côté des noms d'espèces sont mentionnées les localités où ont évolué les fruits blessés.

(2) Un tableau situé à la fin du mémoire (p. 171) indique la date des expériences et les dimensions des fruits qui ont fait l'objet d'observations particulières ou qui sont figurés dans les chapitres qui suivent. A titre d'exemples, les dimensions de quelques blessures ont été indiquées dans la légende des figures 1, 2 et 3.

de rasoir genre Gillette et les fruits blessés ont continué leur développement sur pied et dans les conditions naturelles.

MM. les Professeurs MOLLIARD, GUILLAUMIN et GAIN ont eu la bonté de mettre à ma disposition les collections de la station de Biologie végétale de Fontainebleau et des Jardins des Plantes de Paris et de Nancy ; je les en remercie bien vivement ainsi que MM. EICHHORN et GUINET du Museum.

J'ai consacré une année à des observations générales sur les réactions post-traumatiques des fruits ; je les rapporterai sommairement dans les premiers chapitres. Mais le sujet s'est bientôt révélé si vaste et si complexe qu'il a fallu le limiter. Aussi ce mémoire est-il essentiellement consacré aux faits révélés par l'examen microscopique et par l'application des techniques histologiques et microchimiques. Ces recherches ont été poursuivies au Laboratoire de Physiologie végétale de la Sorbonne. C'est une occasion pour moi d'exprimer à son Directeur, M. le Professeur MOLLIARD, mes sentiments très respectueux et ma reconnaissance pour les notions que je lui dois, pour ses précieux conseils et pour l'obligeance avec laquelle il m'a aidé en plusieurs circonstances. M. PLANTEFOL, sous-directeur au Collège de France, me permettra de le remercier ici de ses enseignements théoriques et pratiques et du goût de la précision et de la critique qu'il a cherché à me communiquer. Durant un court séjour à Nancy, M. le Professeur GAIN a eu la bonté de m'accepter dans son laboratoire et M. LENOIR a guidé mes premiers pas à travers les techniques histologiques ; je les remercie tous deux ainsi que M. le Professeur RABAUD et MM. MICHEL-DURAND, CRÉPIN, ÉCHEVIN, GARNIER de la Sorbonne qui m'ont maintes fois facilité le travail de laboratoire ou les recherches bibliographiques.

Après un historique consacré aux travaux antérieurs sur les réactions des fruits aux traumatismes, ce mémoire comporte trois parties essentielles :

- 1° **Observations macroscopiques ;**
- 2° **Recherches microscopiques ;** les diverses espèces sur lesquelles ont porté mes observations sont étudiées successivement dans cette deuxième partie ;
- 3° **Les phénomènes élémentaires de la cicatrisation :** comparaisons ; mécanisme des diverses réactions observées.

HISTORIQUE

De très nombreux chercheurs ont étudié les réactions des plantes aux traumatismes. En général leurs observations ont porté sur des tubercules (*pomme de terre*, chou-rave), fréquemment aussi sur des feuilles, rarement sur des pièces florales ou des fruits. On ne trouvera, dans ce chapitre, qu'un résumé très sommaire des travaux cités ; c'est seulement dans la troisième partie que les détails seront examinés. Les comparaisons seront plus faciles après l'exposé des observations personnelles.

Les arboriculteurs ont observé depuis longtemps que les fruits blessés tombent souvent, que parfois leur maturation est accélérée par les traumatismes, enfin que toute lésion ouvre une porte aux germes parasites ou saprophytes.

MOHL rapporte (1838 [159], p. 231) qu'une piqûre d'insecte peut accélérer la pigmentation d'un fruit.

HOFFMANN (1872, [95]) ayant observé l'extrusion de graines de raisin a réalisé expérimentalement des lésions pour voir si des traumatismes n'étaient pas responsables de l'anomalie. Effectuant des scarifications sur des fruits très jeunes, il a constaté le développement de liège « couleur de bois ». L'ablation d'un segment de fruit avec un couteau bien affilé n'était supportée que par quelques baies qui cicatrisaient et atteignaient ensuite la taille normale. L'auteur conclut de toute une série d'observations purement morphologiques que la blessure effectuée à un stade très précoce peut permettre l'ectopie des graines (p. 123).

Dans un article très court et superficiel, CARRIÈRE et ANDRÉ (1884 [36]) rapportent les observations de BOISSELOT relatives à l'influence des lésions sur les poires. Cet auteur rappelle que les fruits piqués par les vers sont plus précoces que les autres et constate que les poires blessées sont parfois plus sucrées que les témoins. Il note également que les fruits opérés au moment où ils ont atteint le tiers de leur grosseur maximum cicatrisent et ne tombent pas.

HARZ (1885 [90], p. 138) signale dans un tout autre domaine un travail de LIVACHE où cet auteur relate la diminution de teneur

en oxygène et l'augmentation du gaz carbonique à l'intérieur des fruits lésés.

HOPPE-SEYLER (1889 [99]) constate que les pommes et les poires meurtries, écrasées, brunissent et perdent leur odeur et leur saveur. Ce brunissement apparaît très rapidement; l'auteur en conclut qu'on ne peut l'attribuer au développement de champignons (p. 68).

Dans son traité d'anatomie (1889 [231]) TSCHIRCH reproduit à la figure 308 la coupe des tissus cicatriciels examinés par lui sur un fruit de Vanille piqué par un insecte. Les cellules voisines de la lésion ont beaucoup grandi et ont subérifié leurs parois; les cellules épidermiques elles-mêmes ont élaboré du liège (p. 275).

STICH (1891 [219]) observe qu'un fruit de *Datura* dégage plus de gaz carbonique et absorbe plus d'oxygène après blessure qu'à l'état normal; son quotient respiratoire s'abaisse.

FRANK consacre un paragraphe de son traité de Phytopathologie (1895 [62], p. 149) à l'étude des réactions post-traumatiques des fruits. On peut le résumer en quelques phrases. Une faible blessure de l'enveloppe n'a pas d'influence nuisible et entraîne seulement la formation d'un tissu subéreux brun (prunes, cerises, poires, pommes, raisins, courges). Les blessures plus profondes cicatrisent souvent aussi mais alors la pulpe se développe généralement de façon incomplète et les fruits se déforment. Les blessures profondes portant sur des fruits mûrs ne cicatrisent pas: c'est le cas pour les crevasses des cerises ou des prunes qui apparaissent parfois à la suite d'une alimentation excessive en eau (p. 150).

LINET (1895 [129]) explique le brunissement des blessures chez les pommes par l'oxydation d'un tanin et montre la présence d'une oxydase dans les tissus.

GERBER (1897 [72]) observe que le sectionnement des pommes active la combustion des acides organiques (p.84); il en est de même pour les mandarines qui consomment ces substances au lieu de les garder en réserve (p.145); quant aux kakis, s'ils sont riches en tanins, le fractionnement augmente leur intensité respiratoire, tandis qu'il est sans effet lorsque ces phénols sont absents (p.230). Pour GERBER, ce dernier résultat expérimental est explicable par le fait que les méats sont alors bouchés par la pectine.

RICHARDS (1897 [201]) étudie sur le fruit de *Cucumis sativus* le

dégagement de chaleur post-traumatique et constate que l'émission est maximum 24 h. après l'opération.

Dans un grand travail d'ensemble sur les tissus cicatriciels, MASSART (1898 [147]) décrit sur le fruit de *Cucurbita moschata* (p. 33, fig. 37), la mort des cellules superficielles, le comblement des méats par croissance des cellules sous-épidermiques, la division des grandes cellules du mésocarpe. Il fait remarquer que certains melons présentent naturellement des fentes qui cicatrisent. Il note également que, chez les poires, les sclérites sont plus nombreux au voisinage des régions cicatrisées.

WARCOLLIER en 1905 [244] signale que dans les pommes à cidre blessées l'amidon subsiste seulement dans les régions meurtries.

FRIEDRICH (1908 [65]) consacre un important mémoire au chimisme des organes végétaux lésés. Il opère notamment sur des fruits (*Cydonia japonica*, *Pirus Malus*) qu'il place en atmosphère saturée d'humidité, à 20°. Les analyses révèlent sur les fruits blessés une augmentation de l'azote protéique, une diminution des hydrocarbones, un accroissement de l'acidité (p.13).

Du point de vue morphologique, relevons dans un mémoire de LUBIMENKO (1910 [134]) des renseignements intéressants. Expérimentant sur des fruits de *Colutea arborescens*, *Pisum sativum*, *Lathyrus latifolia*, il constate qu'une lésion mettant en communication la cavité ovarienne avec l'extérieur entraîne un arrêt de développement des graines ; que parfois les fruits opérés meurent ; que dans certains cas enfin des soudures se produisent au niveau des lèvres de la blessure, reconstituant une cavité ovarienne close.

SCHNEIDER-ORELLI (1911 [207]) rapporte diverses observations importantes : augmentation du gaz carbonique émis par des pommes ou des poires après lésion ; absence de liège cicatriciel sur un fruit jeune séparé de l'arbre ; diminution de la faculté de cicatrisation au cours du développement ; subsistance de l'amidon dans les cellules mortes autour de certaines galeries de larves. L'auteur constate qu'en l'absence de tissu cicatriciel, on peut déceler l'existence d'une excitation d'origine traumatique (« Wundreiz ») par l'augmentation du CO² dégagé.

VOGES dans un mémoire sur les blessures dues à la grêle (1912 [241]) donne quelques indications relatives à des fruits (pommes, poires) ; il constate la formation de liège à la limite des tissus morts

et du parenchyme vivant. Chez la poire, le phelloderme est formé de sclérites.

En 1912, TIESSEN [225] reprend avec précision l'étude des dégagements de chaleur consécutifs aux blessures. Il opère sur différents organes végétaux et en particulier sur des pommes ; il constate que le dégagement de chaleur est maximum une heure environ après le traumatisme et qu'il dure de 1/2 à 3 jours, l'élévation de température atteignant environ 1/25° de degré.

VERTES, dans un très intéressant mémoire sur l'anatomie et le développement de quelques fruits (1913 [238]) signale que normalement, au cours de la croissance, les pommes et les poires peuvent fendre leur cuticule et leur exocarpe, ce qui a pour conséquence la formation de liège cicatriciel.

KENDALL (1918 [107]) rapporte que, chez les Solanées, un traumatisme portant sur le fruit entraîne la chute de celui-ci.

Dans son grand traité de Phytopathologie, SORAUER (1924 [215], p. 781), énumère de nombreux faits concernant les réactions post-traumatiques des fruits. Il signale que l'excès d'eau suivi ou non de sécheresse, les gelées tardives, les bouillies cupriques, les guêpes sont responsables de lésions qui cicatrisent. Il note que les fruits blessés peuvent présenter une accélération dans l'évolution des pigments colorés (p.281). La fig. 236 de son livre représente une coupe à travers les tissus cicatriciels d'une tomate grêlée. On y remarque, sous l'épicarpe resté en place, des cellules mortes, puis du liège, enfin plus profondément, des cellules de parenchyme régulièrement empilées. L'auteur signale en outre la persistance de l'amidon, le développement des saprophytes, le craquellement du liège dans les vieilles cicatrices.

KÜSTER a consacré lui aussi aux tissus pathologiques un très important travail (1925 [123]). Nous reviendrons par la suite sur les nombreux documents que contient cet ouvrage. En ce qui concerne plus spécialement les fruits, l'auteur indique la possibilité de formation au niveau des lésions d'un cal (p.79) ou d'un méristème engendrant du liège (p.134 et 141). Il a observé sur des poires la formation de sclérites empilés sous des blessures dues à la grêle (p.144).

En 1927, CATALANO [38] constate que chez la Fève (*Vicia Faba*),

la piqûre de jeunes gousses entraîne l'arrêt du développement de la région atteinte.

Les lésions provoquent également des perturbations électriques ; KÜMMEL (1930 [121]), par exemple, les a étudiées récemment sur des pommes, des poires, des tomates. Les phénomènes électriques post-traumatiques (courants de blessure) passent par un maximum tantôt quelques minutes, tantôt quelques heures après l'opération.

L'étude complexe du brunissement des lésions a été reprise récemment par SPITZER (1931 [216]). L'auteur admet, pour expliquer cette coloration de certains fruits (poires, pommes, etc...) une réaction entre la Dopa (dioxyphénylalanine) et un ferment thermolabile.

Au moment où la rédaction du manuscrit de ce mémoire était à peu près terminée, un important travail relatif au même sujet m'est parvenu. L'auteur, GARMS (1933 [68]) a effectué une partie de ses observations en même temps que moi, parfois même sur des espèces identiques. Ses recherches ont porté essentiellement sur des fruits de *Fraxinus excelsior*, *Acer Schwedleri*, *Canavalia ensiformis*, *Vicia monanthos*, *Rhododendron*, *Iris sibirica*, *Paeonia peregrina*, *Ilex aquifolium*, *Prunus domestica*, *Malus floribunda*, *Ribes Grossularia* et *Solanum nigrum*. Il a pratiqué surtout des blessures de faible surface (encoches) favorables au développement de cals obstruant souvent l'ouverture. Retenons ici les plus importantes de ses observations : sauf chez les Monocotylédones, la formation de liège dérivé d'un phellogène est fréquente ; la vitesse de différenciation des tissus de blessure varie beaucoup d'une espèce à une autre ; la réaction est surtout intense si le traumatisme est effectué au début de la période de croissance ; généralement l'activité des divisions cellulaires croît de l'exocarpe vers l'endocarpe ; lorsqu'il existe des lacunes, celles-ci sont bouchées grâce à l'accroissement de cellules qui se divisent ; les tissus cicatriciels présentent souvent des différenciations : sclérites, trachéides, cellules à cristaux, à mucilage, verrues sur les membranes, anthocyane, accumulation de tanins, de graisse (*Ilex*), etc. Enfin l'auteur insiste sur l'analogie des tissus de blessure avec les régions normales du fruit les plus externes.

PREMIÈRE PARTIE

OBSERVATIONS MACROSCOPIQUES SUR LES CONSÉQUENCES DES BLESSURES

CHAPITRE PREMIER

DESTINÉE DES FRUITS BLESSÉS

Le comportement des fruits blessés varie avec de multiples facteurs ; le stade du développement au moment de l'expérience, les conditions météorologiques, l'étendue de la blessure interviennent principalement. Quoi qu'il en soit, on peut constater bientôt qu'à la suite d'un traumatisme, le fruit tombe, sèche, pourrit ou cicatrise sa blessure. Nous allons examiner sur quelques exemples ces diverses éventualités.

a) *Chute des fruits blessés.* — Les Groseilles tombent rapidement après formation d'une zone fragile dans le pédoncule lorsqu'elles ont été sectionnées transversalement au niveau de leur diamètre maximum. Quelle que soit leur taille, les fruits opérés tombent toujours en moins d'une semaine. Ils résistent généralement un peu plus longtemps à une large lésion latérale. De très nombreuses observations sur les Pêches ont abouti à des résultats assez discordants. Des fruits comparables en apparence, subissant des lésions latérales analogues résistent par exemple l'un 10 jours, l'autre 18 et

le troisième 72 jours. Ce qui est certain, c'est que les très jeunes fruits ne résistent pas aux ablations un peu étendues et qu'il en est de même de ceux qui approchent de la maturité. Seuls les fruits en pleine croissance restent sur l'arbre et cicatrisent leurs blessures. Des observations sur l'Abricot conduisent aux mêmes conclusions. Les blessures étendues effectuées sur de très jeunes coings, de petites figues et des fruits de *Berberis* ont toujours entraîné leur chute. STOYE [221] ayant plâtré des fruits a remarqué lui aussi que les plus jeunes étaient les plus fragiles.

Il est impossible de donner plus de précision car les variations individuelles sont nombreuses. Elles peuvent s'expliquer sans doute par les conditions météorologiques, la surface de la lésion, etc... SORAUER signale par exemple ([215], p. 267) que souvent le manque d'eau entraîne la chute des abricots et des pêches, et que les fruits situés à l'extrémité des rameaux ou provenant des fleurs les plus tardives tombent très fréquemment, ce qu'on peut vérifier également sur le Marronnier d'Inde et le Lierre (1).

J'ai constaté chez le Lierre, sur des ombelles isolées placées dans des conditions expérimentales variées, que le diamètre du fruit, l'alimentation en eau, l'humidité de l'atmosphère, la température, interviennent pour déterminer la chute du fruit plus ou moins tardivement. *Les fruits blessés tombent toujours les premiers*. La séparation est due à l'apparition, à la base du pédoncule, d'une zone génératrice; les cellules qui en dérivent s'accroissent et s'arrondissent, se séparant ainsi de leurs voisines. La blessure résultant de la chute cicatrise ensuite. Ces observations sur le Lierre s'accordent parfaitement avec les données de KENDALL [107], de NAMIKAWA [169] et surtout de FEHÉR [59] sur la chute des fruits.

Des phénomènes d'autotomie analogues ont été observés par MASSART sur des rameaux et des feuilles ([147], p. 61).

b) *Dessiccation*. — Fréquemment le fruit sèche et reste longtemps sur pied dans cet état. Les très jeunes fruits d'*Iris pallida*, de

(1) Chez le Marronnier (*Æsculus Hippocastanum*) les groupes inférieurs de l'inflorescence (grappe de cymes) s'épanouissent les premiers; chez le Lierre (cyme d'ombelles) ce sont au contraire les groupes terminaux qui fleurissent d'abord. Dans les deux cas, les premiers bouquets épanouis sont généralement les seuls qui mènent leurs fruits à maturité.

Néflier, de *Malus microcarpa*, les gousses de *Lathyrus odoratus* sèchent généralement à la suite d'une large ablation ; tous se contractent et se rident.

c) *Putréfaction*. — Je l'ai observée exclusivement sur les fruits blessés à l'approche de la maturité (Pêche, *Malus microcarpa*, Abricot). La lésion permet aux saprophytes et même à des insectes de s'installer dans la pulpe et aucun tissu cicatriciel n'arrête leur progression. VON KAAH a montré [103] l'importance des conditions météorologiques dans cette évolution des blessures ; les lésions effectuées par cet auteur pendant l'hiver sur des tiges de *Phaseolus*, *Vicia*, *Cucurbita* étaient généralement le siège de pourriture (p. 8).

d) *Cicatrisation*. — On peut deviner d'après ce qui précède que seuls cicatrisent les fruits opérés en cours de croissance intense, ni trop jeunes, ni trop proches de la maturité. Dans le fruit évolué, les cellules, différenciées, sont devenues incapables de se diviser. Remarquons d'autre part que dans certains fruits mûrs, des pêches par exemple, les cellules du mésocarpe sont mortes. Ce fait suffit à expliquer l'impossibilité de la cicatrisation. Il a été signalé déjà par PUCHINGER [196], mais il ne se retrouve pas chez toutes les espèces (KÜSTER [124] a étudié les cellules vivantes des baies mûres de Solanées). Pour GERBER [72] la mort des cellules résulte d'une asphyxie due à l'obstruction des méats (évolution pectique).

Les faits qui précèdent permettent d'énoncer une loi applicable particulièrement à la pêche et à l'abricot et qui précise les données anciennes (p. 10 et 11) :

Au point de vue de la réaction aux blessures, la vie du fruit peut se diviser en trois périodes :

1° le fruit très jeune ne cicatrise pas et tombe ;

2° le fruit en pleine période de croissance cicatrise généralement ;

3° à l'approche de la maturité, la cicatrisation est impossible et le fruit pourrit fréquemment.

Pour PRIESTLEY et WOFFENDEN, ces faits sont explicables par des variations de pression de la sève : « The cork formation depends upon the sap pressure still active in the young fruit upon the tree and no longer operative when the fruit is removed from the tree or has ripened » ([190], p. 259).

CHAPITRE II

MORPHOLOGIE DES FRUITS BLESSÉS

Les fruits qui ont supporté les traumatismes présentent des particularités que l'on peut classer sous les titres suivants :

- aspect de la lésion ;
- courbure du fruit ;
- anomalies de croissance ;
- soudures ;
- évolution des pigments ;
- déhiscence anormale ;
- rapports entre les blessures du péricarpe et le développement des graines.

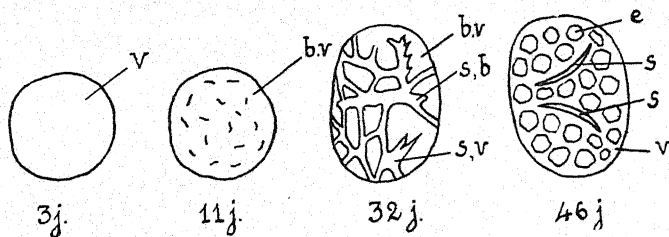


Fig. 1. — Cicatrices d'Abricots. *v* : vert ; *bv* : brun violacé ; *s* : sillon ; *e* : écaille ; *b* : brun. Ces cicatrices correspondent aux fruits : 1032, 1073, 1006-2 et 1002-2 ; le diamètre moyen des lésions était à la récolte : 16, 22, 15 et 17 mm.

a) Aspect de la lésion

A un stade plus ou moins tardif, les cicatrices sont presque toujours brunes. Par exemple chez l'Abricot, la lésion d'abord verte devient d'un brun violacé puis marron ; vers le 17^e jour apparaissent des craquelures dues à la croissance du fruit et à l'élasticité insuffisante des tissus subérifiés superficiels (fig. 1).

Chez la Pêche, fréquemment des gouttes de gomme suintent en divers points ; elles sont surtout visibles par temps très humide car la gomme gonfle en absorbant de l'eau. La cicatrice d'abord verte devient brune, sèche et souvent déprimée. Elle est violacée lorsque la blessure a été effectuée dans la partie rose du fruit. Quand l'opération porte sur un fruit assez évolué (30 mm. de diamètre par ex.) à pulpe riche en eau, la surface blessée du mésocarpe d'abord plane s'enfonce en entonnoir vers les parties profondes (fig. 2).

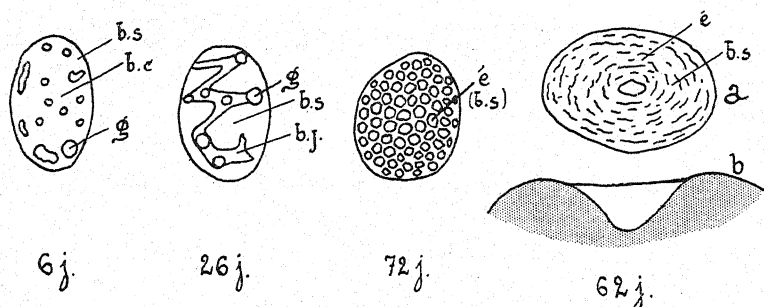


Fig. 2. — Cicatrices de Pêches. *g* : gomme ; *bs* : brun sombre ; *bc* : brun clair ; *bj* : brun jaune ; *é* : écailles. La cicatrice de droite est représentée en plan en *a*, en coupe en *b*. Ces cicatrices correspondent aux fruits 842-2, 1051, 1074-2, 1094-2. Le diamètre moyen des lésions était à la récolte : 18, 16, 23, 28 mm. (de gauche à droite).

Les cicatrices de Coing sont dépourvues d'exsudations gommeuses ; la blessure est suivie très rapidement d'un brunissement du mésocarpe. La surface devient très granuleuse et parfois craquelée.

Les squames brun sombre qui font saillie à la surface sont des paquets de sclérites (fig. 3).

Chez l'Iris (*I. pallida*), les cicatrices, très claires, bordées de vert au moment de la blessure, deviennent d'un gris brunâtre et se crevaissent au bout de plusieurs semaines.

Les Prunes laissent perler des gouttes de gomme à l'orifice des piqûres. Chez le Lierre, la lésion prend un aspect desséché et une teinte grisâtre. Les capsules de Pavot blessées laissent couler leur latex qui noircit peu à peu. Les lésions de fruits d'Euphorbe se couvrent d'un enduit de latex coagulé. Enfin, chez l'Aucuba, chaque piqûre effectuée sur le fruit s'auréole de noir.

Ces phénomènes ont été signalés déjà par divers auteurs. Le

craquellement du liège sous la poussée des tissus en croissance est mentionné par VÖCHTING ([240], p. 86), par GARMS ([68], p. 461) et on sait depuis SCHWENDENER que l'extensibilité et l'élasticité du liège sont extrêmement faibles.

Le brunissement des lésions a été observé par FRANK ([62] p. 62), WYNEKEN ([266], p. 58) sur les feuilles de nombreuses Phanérogames, HOLDEN [96] sur les pétioles de Fougères, STOLL ([220] p. 754) sur les boutures, VOGES [241] sur des blessures dues à la grêle, WÄCHTER sur les tiges d'*Hippuris* [243], GARMS [68] sur divers fruits, etc. On a distingué depuis longtemps le brunissement qui

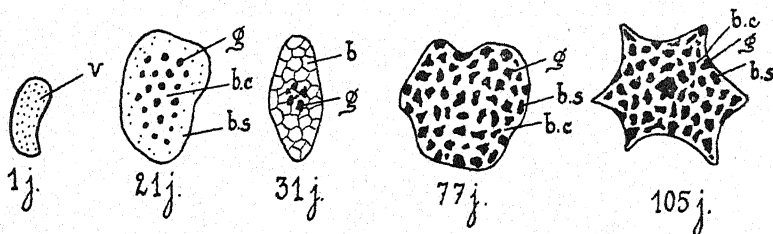


Fig. 3. — Cicatrices de Coings. *v* : vert ; *bs* : brun sombre ; *b* et *bc*, brun clair ; *g* : granulations saillantes. Les deux cicatrices de droite étaient fortement déprimées. Les dessins correspondent aux fruits 1065-1, 1077-1, 1065-2, 1077-2 et 1077-7. Le diamètre moyen des lésions était, au moment de la récolte : 5, 15, 14, 22 et 30 mm. (de gauche à droite).

accompagne la mort des cellules (SCHLEIDEN, SACHS, etc.) de la variation de teinte liée à la subérisation (1) ; le premier a fait l'objet de nombreuses recherches. LINDET [129] l'explique (pomme) par l'oxydation de tanins, grâce à une oxydase ; WINCKEL admet la formation de phlobaphènes, ce qui revient au même ([255], p. 828). MAQUENNE et DEMOUSSY [142] attribuent à la tyrosinase le noircissement de certaines feuilles après la mort. Dans les fruits, SPITZER fait intervenir la dopa (dioxiphénylalanine) et un ferment oxydant [216], etc. LÜDTKE [135] note d'autre part que l'explication fréquente du brunissement des membranes dans les tissus altérés par

(1) Sur cette question du brunissement des blessures voir les synthèses de MOLLIARD ([164 bis], p. 174), de DUFRÉNOY ([57], p. 77) et de KRENKE ([118], p. 371).

une oxydation des tanins n'est pas toujours soutenable ; il s'agit peut-être de produits de transformation de la lignine (p. 362).

En utilisant dès maintenant des observations qui seront relataées plus loin avec plus de précision, on peut conclure qu'il existe quant à l'origine deux brunissements post-traumatiques :

1° l'un très rapide dû à l'oxydation de certains constituants cellulaires (phénols ?) catalysée sans doute par des oxydases ;

2° l'autre plus tardif correspondant à l'apparition de lignine, de subérine ou de produits voisins.

Dans quelques cas j'ai observé des cicatrices brunies par suite de la présence en quantité considérable de filaments mycéliens de couleur sombre (Groseille).

Le noircissement des blessures de l'*Aucuba* se rattache aux colorations dues à l'hydrolyse de glucosides ; ces phénomènes ont été étudiés notamment par MAQUENNE et DEMOUSSY [142] et par BRIDEL [29].

On peut attribuer la couleur blanche ou grisâtre de certaines cicatrices à la présence d'air dans le liège (comparaison avec l'écorce de bouleau : GARMS [68], p. 501).

La couche de latex coagulé qui semble *a priori* jouer un rôle de protection est inutile et gêne même parfois la cicatrisation d'après KNIEP [112] et BERNARD [15].

b) Courbure des fruits blessés.

Les fruits blessés présentent souvent une déformation localisée à l'emplacement de la lésion. Il ne s'agit pas là de réaction traumatotrope, mais d'une déformation d'origine physique : peu de temps après l'ablation, le fruit se courbe parce qu'il a perdu une partie de ses tissus de soutien, et par suite de la contraction du parenchyme consécutive à une perte d'eau. Souvent, le fruit (*Matthiola*) isolé de la plante mère, alimenté en eau et placé en chambre humide peut se redresser, ce qui prouve le grand rôle de l'eau dans ces déformations. Lorsque la courbure n'est pas immédiate mais lente et progressive, elle a une autre origine : elle est due à une croissance déficiente dans la région de la cicatrice. Donc deux phénomènes distincts :

1^o courbure due à l'absence unilatérale de tissu de soutien et à la contraction par dessiccation. Réaction précoce, parfois temporaire. Ex. : *Matthiola* (fig. 4).

2^o courbure due à une croissance déficiente au voisinage de la blessure. Réaction progressive et parfois tardive. Ex. : Pavot, Coing, *Glaucium* (fig. 4), Lierre.

J'ai observé sur des feuilles hachées par la grêle des déformations analogues, c'est-à-dire caractérisées par une altération de la symé-

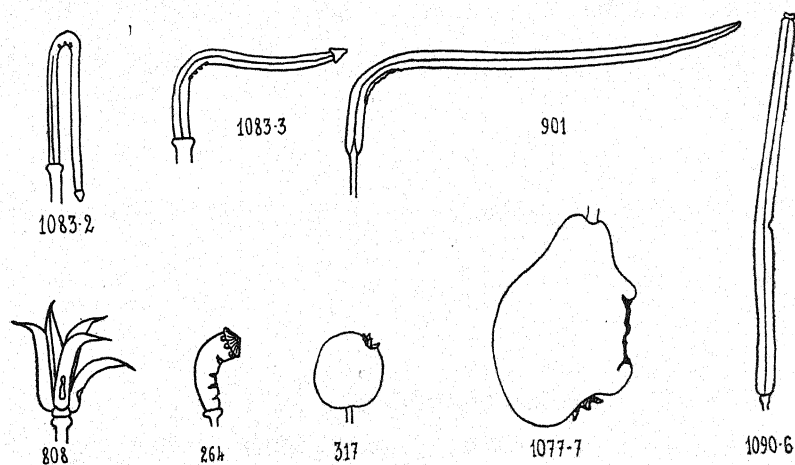


Fig. 4. — Déformation des fruits blessés (lésions latérales).
Glaucium luteum : 1083-2 et 1083-3. *Matthiola* : 901 et 1090-6. *Aquilegia alpina* : 808. *Papaver Rhæas* : 264. *Malus microcarpa* : 317. *Cydonia vulgaris* : 1077-7.

trie. HOLDEN [96] a décrit également des courbures de pétioles de Fougères consécutives aux traumatismes (fig. 23, pl. 74).

BEYER a noté ([18], p. 684) l'existence de ces courbures d'origine mécanique et les a bien séparées des réactions traumatotro-
 piques.

La fig. 255 du traité de SORAUER [215] représente des jeunes pommes atteintes par des bouillies cupriques, ayant pris des formes anormales rappelant beaucoup celles qui sont figurées ci-dessus (fig. 4).

c) *Anomalies de croissance.*

Fréquemment, sinon toujours, une lésion apportée à la croissance d'un fruit une perturbation intense. Les observations résumées dans la figure ci-dessous (fig. 5) se rapportent à des espèces qui ont des

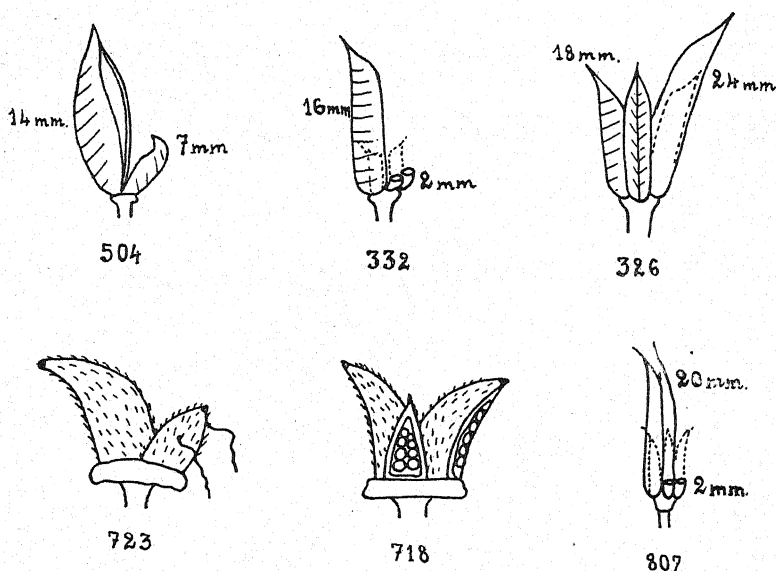


Fig. 5. — Croissance et traumatismes.

Delphinium elatum : 504 : le fruit de droite, fendu longitudinalement n'a pas grandi ; 332 : aucune croissance des fruits de droite ramenés de 5 à 2 mm, par section transversale ; 326 : les deux follicules de gauche ont été fendus suivant la ligne de déhiscence ; le témoin seul a grandi.

Paeonia arietina : 723 : un fil passé à travers un follicule a empêché sa croissance ; 718 : à gauche témoin, à droite ovules non blessés, au milieu péricarpe et ovules lésés : croissance minimum.

Aquilegia vulgaris : 807 : aucune croissance des follicules sectionnés.
En pointillés : dimensions initiales des fruits.

fruits groupés, normalement d'égale longueur. On y voit nettement la gêne apportée à la croissance par les traumatismes.

J'ai commencé sur diverses espèces l'étude quantitative de ces croissances anormales ; les résultats feront l'objet d'un mémoire ultérieur.

d) *Soudures.*

Une fente effectuée transversalement sur un jeune abricot se referme par soudure des tissus lésés voisins (985-2).

Sur des Pois de senteur (*Lathyrus odoratus*), j'ai vu plusieurs fois, après ablation d'une partie importante du fruit (1/3-1/2) par incision transversale ou longitudinale, une soudure s'établir entre les lèvres de la blessure. LUBIMENKO [134] et surtout GARMS [68] ont fait des observations analogues sur divers fruits. Des soudures semblables ont été observées sur des tubercules (KABUS [104]) et sur des tiges (PETERS [184] p. 130; BLARINGHEM [21] p. 43, etc.).

Notons enfin la parenté qui lie ces soudures aux greffes réalisées même sur des fruits (THOUIN [223], p. 238).

e) *Evolution des pigments.*

Les lésions latérales de Groseilles à maquereau s'auréolent généralement de violacé en quelques jours (fig. 7). Dans certains cas, j'ai vu des baies devenir entièrement violet sombre et tomber à la suite d'un traumatisme (1163). Ces colorations sont dues à l'apparition d'anthocyane dans le suc vacuolaire des cellules avoisinant la blessure. Chez le Lierre, si l'on effectue sur un certain nombre de fruits verts (6 mm. de diam.) d'une même ombelle, de larges blessures latérales, on peut observer au bout de 5 à 6 semaines :

1° des fruits normaux (témoins) encore entièrement verts (8 mm.);

2° des fruits blessés dont la blessure est cernée de noirâtre ;

3° des fruits presque entièrement noirs sauf à l'opposé de la lésion ;

4° des fruits lésés entièrement sombres ;

5° des fruits avortés non blessés (4 mm.) entièrement noirâtres.

Le pigment sombre anthocyanique apparaît donc plus tôt sur les fruits blessés que sur les témoins, et il s'étend peu à peu à partir de la lésion. Remarquons cependant qu'un étroit rebord vert subsiste toujours autour de cette dernière. Les fruits blessés montrent également une accumulation de pigment sombre dans leur pédoncule et dans leur stigmate.

Chez l'*Aucuba*, le fruit renferme deux pigments, l'un sans doute anthocyannique dissous dans le suc cellulaire, l'autre jaune et granuleux. Comme dans les espèces précédentes, une blessure latérale effectuée sur un fruit vert de 12 mm. de diamètre par exemple peut présenter une semaine plus tard un cerne vert très étroit; tout le reste du fruit est rouge tandis que les témoins sont encore verts.

Chez les trois espèces étudiées, *l'évolution pigmentaire normale est donc accélérée à la suite d'un traumatisme, sauf dans une étroite zone bordant immédiatement la lésion; la coloration s'étend progressivement à partir de la blessure.*

Des pigmentations analogues ont été observées déjà sur des organes variés notamment sur des fruits (Pivoines, Groseilles) par GARMS (1) [68], sur des tiges par BLARINGHEM ([21], p. 43) et COMBES [41], sur des feuilles par WYNEKEN [266], MIRANDE [156], BUSCALIONI et MUSCATELLO [34], etc.

Je n'ai pas pu rechercher jusqu'alors si les cellules à anthocyane sont plus riches en sucre que les autres. La localisation microchimique des sucres réducteurs par la liqueur de Fehling donne des résultats incertains, surtout en présence de tanins. COMBES [41] a observé un parallélisme sur les tiges blessées de Spirée entre le rougissement et l'accumulation de sucres. Sur les fruits (pommes, poires) RIVIÈRE et BAILHACKE [203] ont observé que les parties anthocyaniques sont plus sucrées que les autres.

La blessure favorise l'accès de l'oxygène aux tissus normalement protégés, et c'est là peut-être un facteur de l'apparition du pigment (MOLLIARD [164], p. 281; COMBES [42]).

Enfin la perte d'eau intervient probablement (2); d'ailleurs GAIN [66] a remarqué que sur les organes souterrains, la dessiccation est favorable à l'accumulation de l'anthocyane (p. 102).

Donc l'accès facile de l'oxygène, la perte d'eau, l'accumulation de sucres sont les facteurs probables du rougissement des régions lésées.

Lorsque le pigment anthocyannique s'est développé sur toute la

(1) GARMS a observé sur des baies de *Solanum nigrum* que la coloration du péricarpe commence au voisinage de la blessure pour s'étendre ensuite ([68], p. 502).

(2) Des fruits de Lierre sphériques, verts (env. 6 mm. de diamètre), non blessés, deviennent noirâtres lorsqu'ils manquent d'eau.

surface du fruit blessé, celui-ci paraît mûr longtemps avant les témoins normaux (Groseille, Lierre, Aucuba). De tels phénomènes ont déjà été rapportés par divers auteurs (voir p. 9 et 12).

f) *Déhiscences anormales.*

Dans quelques cas (*Delphinium*, *Helleborus foetidus*), j'ai observé des déhiscences anticipées à la suite de blessures superficielles des follicules. D'autres expériences au contraire mettent en

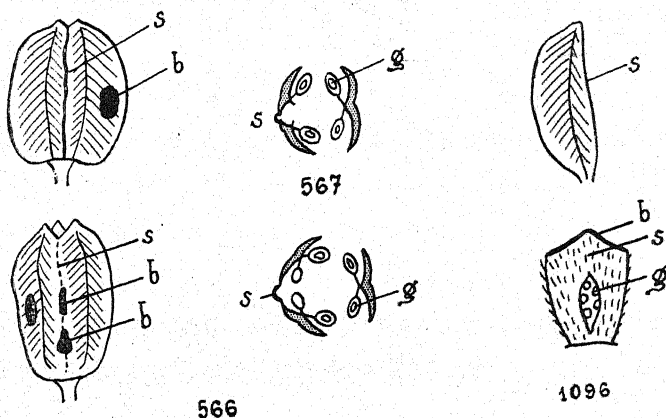


Fig. 6. — Déhiscences anormales.

Paeonia officinalis 1096 (section transversale).

Gladiolus sp. (566, 567) : à gauche, fruits vus latéralement ; au milieu, coupes transversales des capsules ; en haut et à droite, une valve anormale.

b : région blessée ; s : suture ; g : graines.

évidence une influence inhibitrice. Sur *Paeonia officinalis*, une section transversale médiane du fruit a empêché le développement des graines et gêné l'évolution de la région assurant la déhiscence : les valves sont restées soudées au voisinage de la cicatrice. Dans d'autres expériences (*Paeonia corallina*, 800) la déhiscence s'est produite normalement malgré l'ablation.

Chez des Glaïeuls d'ornement (*Gladiolus* sp.) des lésions du fruit ont parfois empêché la déhiscence comme le montrent les figures ci-dessus. Ces faits sont à rapprocher de l'observation de HOUARD

[100] sur une zoocécidie du *Calycotome* : le diptère provoque le développement d'une lame subéreuse dans la zone de déhiscence et la gousse ne s'ouvre pas.

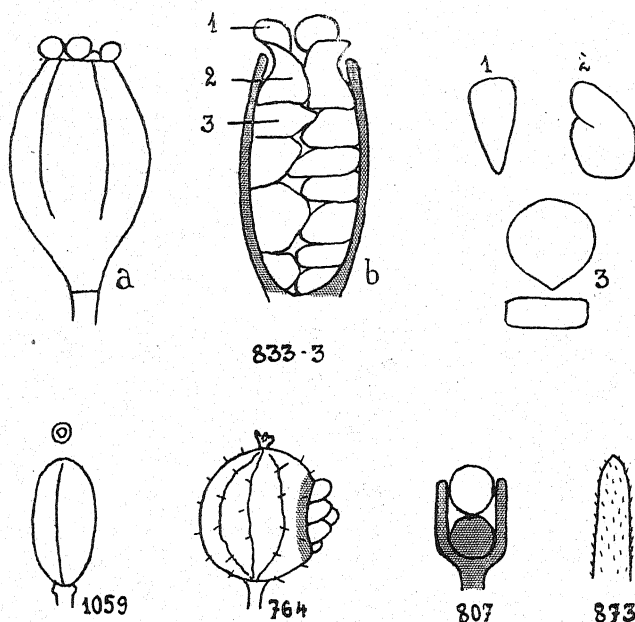


Fig. 7. — Lésions du péricarpe et développement des graines.
Iris sibirica (833-3), section transversale: a: profil; b: coupe d'une loge; 1 et 2 graines déformées; 3 graine normale (plan et profil).
Cheiranthus Cheiri (1059) : le fruit sectionné s'est presque refermé.
Matthiola (873) : le fruit sectionné est refermé.
Ribes Grossularia (764) : graines saillantes au niveau de la blessure; en grisé, auréole violacée.
Aquilegia vulgaris (807) : follicule coupé : une graine de coloration anormale ferme la blessure.

g) Lésions du péricarpe et développement des graines (Fig. 7).

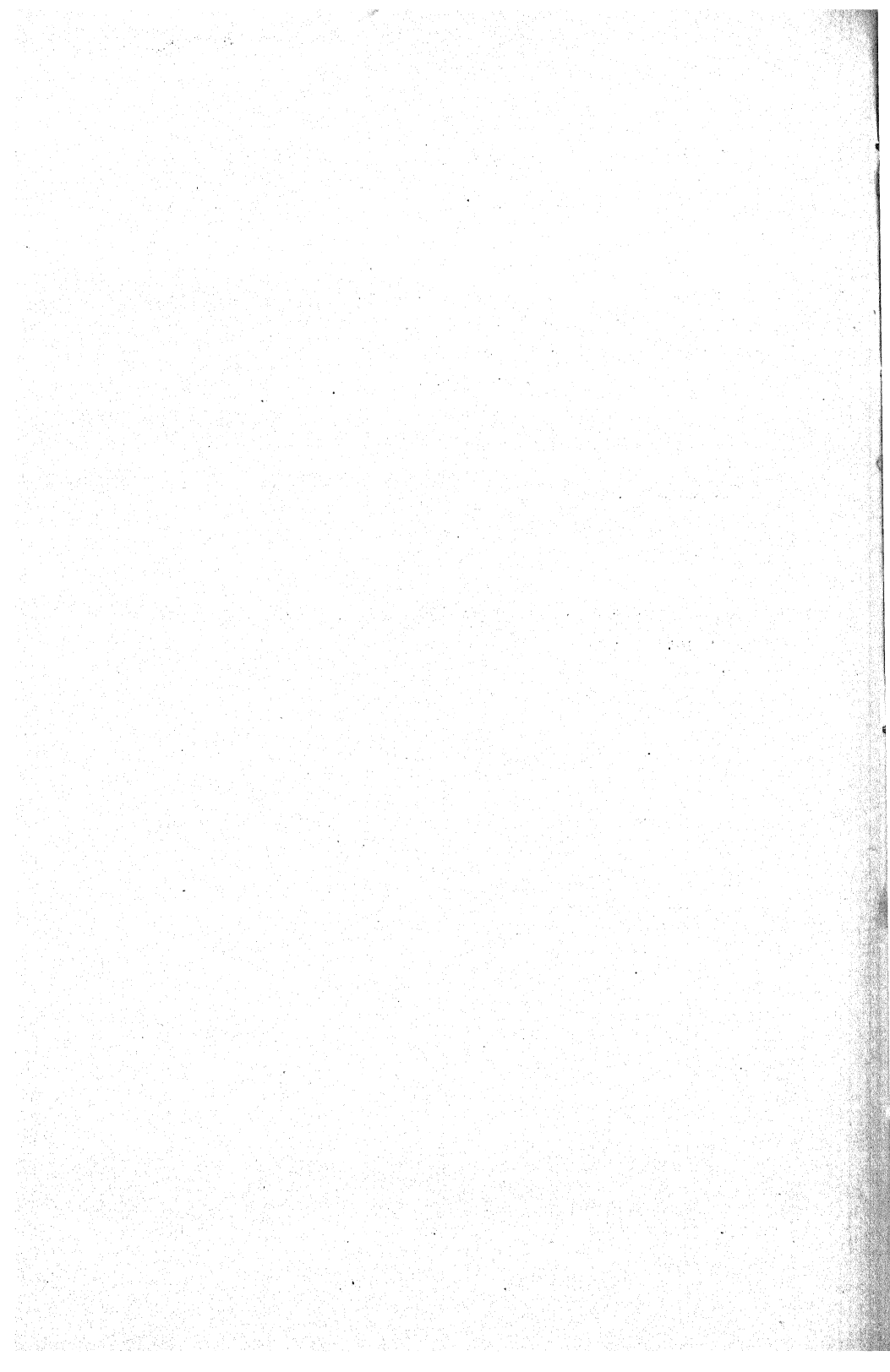
Si la blessure atteint les jeunes graines, celles-ci meurent prématurément. Même si les graines n'ont pas été touchées, elles ne se développent généralement pas au voisinage de la lésion (Ancolie). LUBIMENKO [134] a insisté sur la nécessité de la fermeture de la cavité du fruit; j'ai pu fréquemment confirmer ce fait. Parfois une

graine morte bouchant le follicule sectionné assure la fermeture (Ancolie). Ailleurs, (*Matthiola*, *Cheiranthus*), une section transversale de la silique empêche le développement de la graine à ce niveau, et le fruit se ferme presque complètement en renflant sa région médiane. Cependant dans des follicules de *Paeonia corallina* (800) coupés transversalement et dans des fruits d'*Iris sibirica* et de *Paeonia officinalis* largement blessés latéralement, de nombreuses graines ont évolué normalement.

Chez *Ribes Grossularia* et *Iris sibirica*, les graines continuant leur croissance sortent du péricarpe. A l'état normal elles doivent donc exercer une forte pression sur les parois. D'ailleurs, chez l'*Iris*, les graines sont déformées par suite des pressions que chacune exerce sur ses voisines. Parfois, la cloison séparant deux loges est brisée sous la pression des graines lorsqu'une blessure a ouvert l'une des cavités et détruit l'équilibre des pressions. Ces faits laissent supposer que la croissance des graines est l'un des facteurs de celle des péricarpes particulièrement important chez *Iris sibirica*.

Nous avons vu (p. 9) que l'ectopie des graines a été observée sur des raisins par HOFFMANN [95] et considérée par cet auteur comme la conséquence de traumatismes. GARMS a vu lui aussi des graines de *Ribes* et d'*Ilex aquifolium* sortir au niveau des blessures ([68], p. 482 et 496); il a remarqué également que chez *Iris sibirica* l'existence d'une lésion béante du péricarpe n'empêche pas le développement des graines (p. 474).

(A suivre.)



ACTION DU MILIEU EXTÉRIEUR SUR LE MÉTABOLISME VÉGÉTAL

VI. — LES VARIATIONS DE LA PRESSION OSMOTIQUE CHEZ UNE PLANTE HERBACÉE DÉVELOPPÉE A DES INTENSITÉS LUMINEUSES DIFFÉRENTES

par Mme Odette SALLES.

Des individus appartenant à une même espèce végétale, cultivés dans des conditions de milieu différentes, présentent des métabolismes dissemblables — d'où résultent des matières végétales également dissemblables par leur composition chimique et leurs caractères morphologiques (1).

Ainsi des individus de même espèce, développés à des intensités lumineuses différentes, se montrent dissemblables par leur nutrition minérale (2), leur métabolisme phosphoré (3), leur métabolisme azoté (4), leur activité respiratoire (5). Il était permis de

(1) R. COMBES. — Action du milieu extérieur sur le métabolisme végétal. I. Le métabolisme des substances azotées chez une plante ligneuse développée en atmosphère chaude et humide. (*Revue générale de Botanique*. T. 46, 1934, p. 513)

(2) Jeanne PANCHAUD. — Action du milieu extérieur sur le métabolisme végétal. — II. L'absorption de la matière minérale et l'élaboration de la matière organique chez une plante herbacée développée à des intensités lumineuses différentes (*Revue générale de Botanique*. T. 46, 1934).

(3) Léon ECKHOUTTE. — Action du milieu extérieur sur le métabolisme végétal. — IV. Le métabolisme des substances phosphorées chez une plante herbacée développée à des intensités lumineuses différentes. (*Revue générale de Botanique*. T. 46, 1934).

(4) Marie MOREAU. — Action du milieu extérieur sur le métabolisme végétal. — V. Le métabolisme des substances azotées chez une plante herbacée développée à des intensités lumineuses différentes (*Revue générale de Botanique*. T. 47, 1935).

(5) A.-M. BRONNER. — Action du milieu extérieur sur le métabolisme végétal. — III. La respiration des tissus foliaires formés à des intensités lumineuses différentes (*Revue générale de Botanique*. T. 46, 1934).

penser que les tissus de ces plantes devaient également présenter des différences appréciables dans leur pression osmotique. C'est l'étude des variations que subit la pression osmotique chez des individus de même espèce, développés à différents éclairagements, que se propose le présent travail. En outre, dans le but d'expliquer les variations constatées, j'ai suivi parallèlement, chez ces mêmes plantes, les changements qui se produisent dans la teneur des tissus en eau et en substances solubles, minérales et organiques.

Les expériences ont été faites sur le *Raphanus sativus* L., variété horticole, rond, rose, à bout blanc. Des graines ont été mises d'abord en germination : les plantules qu'elles contenaient ont été examinées :

- 1° Après 1 heure de séjour dans l'eau,
- 2° Après 1 jour de germination,
- 3° Après 3 jours de germination.

D'autre part, des graines ont été semées le 13 mai, dans des pots répartis sous les tentes-écrans utilisées par R. COMBES (1) et ses élèves, à l'Ecole nationale d'horticulture de Versailles.

Les éclairagements réalisés sous les différentes tentes sont déterminés par l'épaisseur des toiles qui les recouvrent. Ils correspondent respectivement à $\frac{1}{9}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{2}$ et $\frac{3}{4}$ de la lumière solaire.

Enfin, un lot de plantes témoins a été cultivé à l'extérieur des tentes, à la lumière solaire totale.

Les récoltes ont été faites à différents stades :

Stade A — Cotylédons étalés	récolte le 26 mai.
— B — 4 feuilles	— du 11 au 13 juin.
— C — apparition de l'inflorescence	— du 4 au 6 juillet.
— D — pleine floraison	— du 16 au 25 juillet
— E — fruits verts	— du 21 au 28 août.
— F — fruits secs	— du 22 au 28 octobre

L'apparition de l'inflorescence, qui caractérise le stade C, ne se produit qu'aux éclairagements 1, $\frac{3}{4}$ et $\frac{1}{2}$; sous l'intensité lumi-

(1) R. COMBES. — Détermination des intensités lumineuses optima pour les végétaux aux différents stades de leur développement. (*Annales des sciences naturelles*, 9^e série. T. 11, p. 75, 1910).

neuse $\frac{1}{3}$ les fleurs n'apparaissent que plus tard, à l'époque correspondant au stade E pour les éclaircissements précédents; enfin sous l'intensité lumineuse $\frac{1}{9}$ aucune inflorescence n'apparaît; les plantes meurent avant d'avoir fleuri.

Dès le stade C, la base de la tige présente un début de tubérisation aux plus forts éclaircissements, et seulement une pigmentation rouge aux éclaircissements plus faibles, sauf à l'éclaircissement $\frac{1}{9}$ où les tiges sont complètement dépourvues de pigment rouge.

Au stade F, les plantes des éclaircissements $\frac{3}{4}$ et 1 portant leurs fruits, ont toutes présenté une seconde floraison.

CHAPITRE II

MESURE DE LA PRESSION OSMOTIQUE

Plusieurs méthodes ont été employées pour mesurer la pression osmotique. Mme MONNIER-DUMONT (1) en a fait une étude critique. Les méthodes qu'on utilise le plus fréquemment sont celles qui reposent sur les déterminations cryoscopiques.

Les liquides destinés à ces déterminations s'extraient de façons différentes. J'ai employé ici la méthode du bouillon — utilisée par LAPICQUE en 1921 (2).

Elle consiste à prendre deux échantillons de la plante à étudier, ayant le même poids frais, et aussi semblables que possible.

Le premier sert à déterminer le poids de la substance sèche. Pour cela, on le met à l'étuve à 95° jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

Le second est traité à l'eau distillée bouillante. Dans un Erlenmeyer de poids connu t , on met une certaine quantité d'eau représentant environ 3 fois le poids frais de la plante. Dans cette eau à

(1) A. MONNIER-DUMONT. — Etude de la concentration des liquides cellulaires végétaux. (Thèse Paris 1932; Coueslant éditeur, Cahors.)

(2) LAPICQUE. — Sur la pression osmotique des algues marines (*Comptes rendus de la Société de Biologie*. T. LXXXV, p. 206).

STADES	Δ					POIDS DE L'EAU CONTENUE DANS 100 GR. DE SUBSTANCE FRAICHE				
PLANTULE avant la germination	5,49					33,219				
PLANTULE après 1 jour de germination.	2,47					47,56				
PLANTULE après 3 jours de germination	2,13					61,506				
Eclairéments :	1/9	1/3	1/2	3/4	1	1/9	1/3	1/2	3/4	1
Stade A	0,52	0,54	0,46	0,48	0,43	93,435	94,959	94,064	93,678	92,833
— B	0,39	0,58	0,53	0,52	0,54	96,224	95,375	94,095	92,558	93,271
— C	0,61	0,52	0,67	0,71	0,59	95,111	94,894	92,114	93,959	93,532
— D		0,54	0,67	0,68	0,72		94,141	93,254	89,947	90,255
— E		0,53	0,72	0,72	0,63		94,832	90,922	88,445	89,061
— F		0,60	0,70	0,77	0,76		92,527	91,143	85,547	88,824

l'ébullition on jette le végétal fragmenté. L'ébullition se poursuit pendant une demi-heure et on laisse ensuite au repos pendant 2 heures.

On pèse le vase et son contenu. Soit M ce poids.

Le bouillon ainsi obtenu est filtré sur une étamine et le résidu pressé à la main. C'est le liquide recueilli et filtré qui sert à déterminer l'abaissement du point de congélation.

Soit θ cet abaissement.

Le poids de l'eau renfermée dans la plante est donné par la différence entre le poids frais de cette plante P et le poids correspondant de la substance sèche p .

La quantité $M - (t+p)$ représente le poids total de l'eau contenue dans le bouillon et la formule $\frac{M - (t+p)}{P - p}$ donne le coefficient de dilution.

Δ ou l'abaissement total du point de congélation des liquides cellulaires est obtenu par la formule : $\Delta = \theta \frac{M - (t+p)}{P - p}$

On peut faire à cette méthode plusieurs objections :

1° Le suc de tissus ne représente pas le mélange des sucs vacuolaires des cellules, mais l'ensemble de l'eau et des substances solu-

MATIÈRE MINÉRALE SOLUBLE POUR 100 GR. DE SUBSTANCE SÈCHE.					MATIÈRE ORGANIQUE SOLUBLE POUR 100 GR. DE SUBSTANCE SÈCHE				
1,844					15,7				
1,887					16,685				
2,461					18,435				
1/9	1/3	1/2	3/4	1	1/9	1/3	1/2	3/4	1
10,463	13,611	12,200	10,541	10,706	20,998	18,383	18,300	21,560	19,726
18,409	18,378	16,716	12,282	7,135	27,272	20,457	19,621	21,282	37,203
15,789	16,841	14,372	17,180	15,643	21,654	15,450	17,939	30,899	31,674
	17,674	14,433	11,284	11,316		18,672	21,331	16,139	18,767
	15,817	12,703	10,584	9,253		22,177	18,129	14,621	19,304
	26,615	13,581	8,099	10,947		17,815	16,939	13,378	15,101

bles contenues dans les divers territoires cellulaires : suc vacuolaire, protoplasme, noyau, membrane, etc...

2° Le végétal est encore vivant lorsqu'il est fragmenté. Des cellules à glucides par exemple, peuvent être mises en contact avec des ferments, d'où transformations de glucides à grosse molécule en substances de faible poids moléculaire.

3° Les derniers restes de suc contenus dans le résidu pressé à la main peuvent n'avoir pas une pression osmotique identique à celle du suc obtenu par pression.

Quoiqu'il en soit, ce procédé d'extraction des liquides cellulaires est considéré par Mme MONNIER-DUMONT comme étant le plus satisfaisant — c'est celui que nous avons adopté ; dans notre cas, les résultats obtenus sont d'autant plus valables qu'il s'agit de comparer entre elles plusieurs quantités de même ordre, la limite supérieure de l'erreur commise devant être à peu près la même dans tous les cas.

J'ai réuni dans le tableau ci-dessus les résultats obtenus dans la mesure de la pression osmotique des sucres de tissus, pour les jeunes plantules d'abord, à 3 stades différents, avant et après la germination, à la lumière normale — et pour les plantules plus déve-

loppées ensuite. A chacun des stades A, B, C, D, E, F dont j'ai parlé plus haut, j'ai déterminé le Δ des plantes cultivées sous les éclairéments $\frac{1}{9}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$ et 1 — 1 désignant la lumière solaire totale. Les résultats de ces mesures sont exprimés dans la première colonne du tableau.

En même temps que les échantillons qui devaient servir à extraire les sucs de tissus, j'ai recueilli d'autres plantes aussi semblables que possible aux premières, et avec lesquelles j'ai pu obtenir le poids de la substance sèche, et par différence, le poids de l'eau correspondant à 100 gr. de substance fraîche. Les chiffres relatifs à la teneur en eau sont consignés dans la seconde colonne du tableau ; il est facile d'en déduire les teneurs des tissus en substance sèche.

Enfin, l'eau contenue dans chaque liquide extrait a été évaporée à l'étuve. Ce liquide ne contenant pas la totalité des substances solubles existant dans le tissu végétal, une petite partie étant demeurée dans le résidu de presse, ce dernier a été pressé à nouveau après avoir été épuisé de ses substances solubles par plusieurs lavages à l'eau distillée bouillante, et les liquides d'épuisement ont été ajoutés au bouillon qui avait servi à déterminer le Δ . C'est ce mélange qui a été porté à l'étuve pour évaporation de l'eau. Le résidu, après avoir été pesé, a été calciné au moufle. J'ai pu connaître ainsi les poids des matières organiques et des matières minérales solubles contenues dans les tissus. Ces poids sont rapportés à 100 gr. de la substance sèche des plantes étudiées, et ils font l'objet des troisième et quatrième colonnes du tableau.

Les courbes qui font suite expriment très clairement les résultats obtenus. Ce sont les variations de ces courbes que nous allons étudier. Les temps séparant les stades auxquels les récoltes ont été faites ont été portés en abscisses, et les valeurs du Δ , de l'eau, ou des substances solubles correspondantes, ont été portées en ordonnées.

L'examen des résultats réunis dans les courbes et dans le tableau permet de se rendre compte de l'influence qu'exerce l'éclairément sur les variations de la pression osmotique des tissus végétaux, et d'expliquer dans une certaine mesure le mécanisme de ces variations..

Nous examinerons tout d'abord comment évolue la pression osmotique chez une plante vivant à l'éclairement normal, c'est-à-

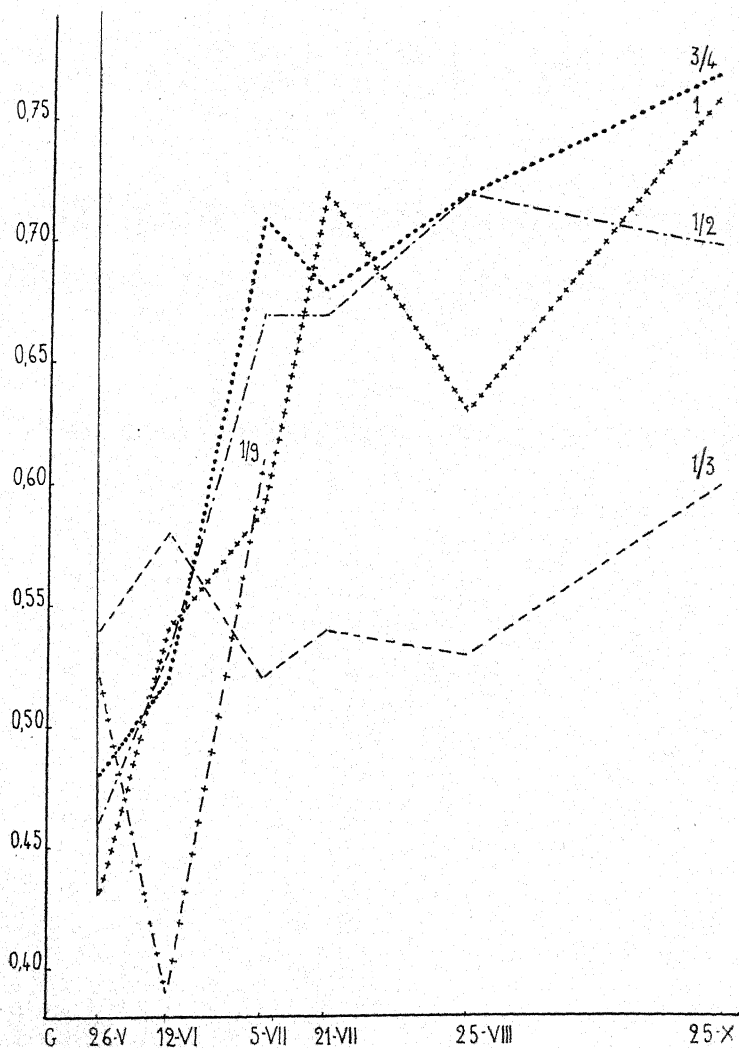


Fig. 1. — Courbes représentant les variations de la pression osmotique chez des Radis développés à des éclaircements différents : à la lumière solaire totale 1 et à des intensités lumineuses correspondant respectivement à $\frac{3}{4}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{9}$ de la lumière solaire totale.

dire à la lumière solaire totale ; nous montrerons ensuite comment cette évolution est modifiée chez les individus développés aux éclairéments plus faibles ; enfin, nous essaierons d'expliquer les variations que présente la pression osmotique au cours de la croissance des plantes dans les diverses conditions réalisées.

La pression osmotique est très élevée dans les plantules de *Radis* avant la germination. Elle commence à décroître dès le premier jour de germination (fig. 1) et la diminution s'accroît rapidement jusqu'à l'apparition des cotylédons. Elle atteint son minimum lorsque les cotylédons ont fini de croître et que la gemmule est déjà en voie de développement. Elle augmente ensuite, et cette augmentation se poursuit jusqu'à la pleine floraison. Elle subit une baisse pendant la formation des fruits, puis recommence à croître jusqu'à la fin de la végétation.

Voyons maintenant comment le développement à des intensités lumineuses plus faibles agit sur ces variations de la pression osmotique.

Aux intensités lumineuses voisines de la précédente, aux éclairéments $\frac{3}{4}$ et $\frac{1}{2}$, les courbes de variation de la pression osmotique ont des allures générales assez semblables à celle de l'éclairement 1 que nous venons d'examiner ; après la chute rapide correspondant aux premiers jours de la germination, elles ne présentent aussi qu'un accident sur leur trajet — toutefois cet accident se produit un peu plus tôt à ces lumières atténuées qu'à l'éclairement solaire total — il a lieu au stade de la floraison et non pendant la fructification ; il consiste en une légère baisse, suivie d'un redressement, à l'éclairement $\frac{3}{4}$ et en un simple plateau, suivi d'un redressement, à l'éclairement $\frac{1}{2}$.

Chez les plantes cultivées à des intensités lumineuses plus faibles, $\frac{1}{3}$ et $\frac{1}{9}$, l'évolution de la pression osmotique apparaît toute différente. Dans les tissus des plantes de l'éclairement $\frac{1}{3}$, après le stade de la germination, la pression osmotique ne subit que des

variations de faible amplitude, et n'atteint jamais les valeurs auxquelles elle parvient chez les individus recevant plus de lumière.

Dans les tissus des plantes de l'éclairement $\frac{1}{9}$ la chute de la pression

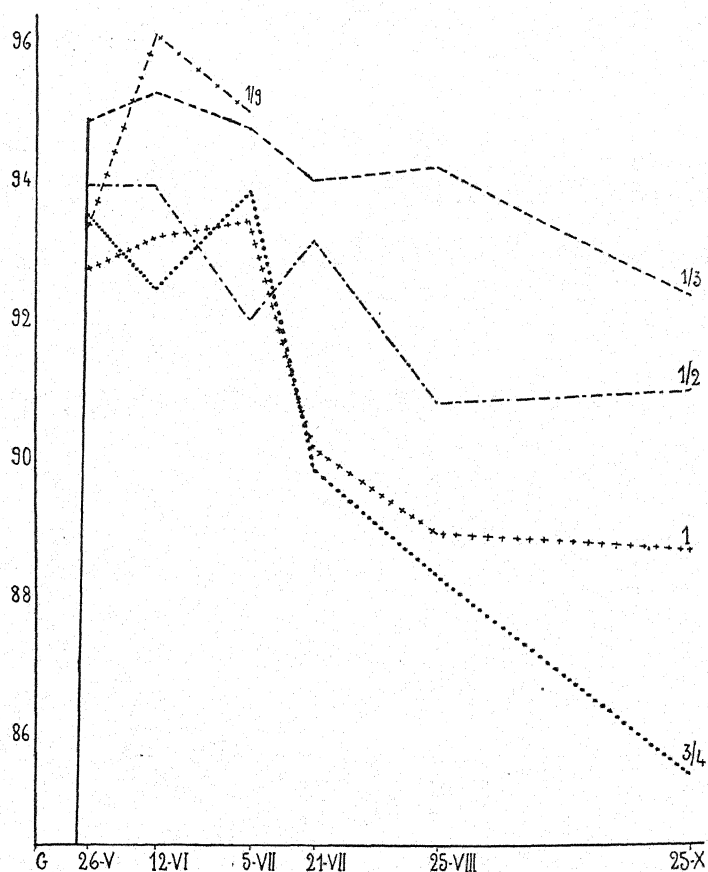


Fig. 2. — Courbes représentant les variations de la teneur en eau des tissus chez des Radis développés à des éclaircements différents : 1, $\frac{3}{4}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$ et $\frac{1}{9}$

osmotique caractérisant la période de germination se prolonge pendant plus longtemps que dans toutes les autres conditions d'éclai-

rement ; à cette chute succède un redressement comparable à celui que l'on constate chez les plantes développées aux éclairéments plus intenses.

Essayons maintenant d'établir les causes déterminantes des diverses modifications que nous venons de constater dans la pression osmotique chez les plantes développées sous les cinq éclairéments considérés.

Voyons d'abord comment varient les teneurs en eau, en matières minérales solubles et en matières organiques solubles, comparativement chez les plantes cultivées sous les cinq éclairéments différents.

Les courbes de la figure 2 montrent que sous tous les éclairéments les tissus s'enrichissent rapidement en eau au cours de la germination, atteignant des taux d'hydratation d'autant plus élevés que la germination a lieu à des lumières moins intenses. A la lumière très faible $\frac{1}{9}$ cet accroissement d'hydratation qui caractérise la germination se prolonge plus longtemps qu'aux autres éclairéments. A la fin de la végétation, les plantes perdent au contraire de l'eau ; la perte est importante et commence tôt aux éclairéments intenses 1 et $\frac{3}{4}$ — elle est d'autant plus restreinte et tardive aux autres éclairéments que la lumière est plus atténuée. Entre ces deux périodes extrêmes, les variations de l'eau apparaissent faibles sous tous les éclairéments. A l'intensité lumineuse $\frac{1}{9}$, où les plantes vivent peu de temps et ne fleurissent pas, la perte d'eau qui caractérise la fin de la végétation fait immédiatement suite à l'hydratation caractéristique de la germination.

Les courbes de variation de la matière minérale soluble (fig. 3) montrent un enrichissement des tissus en minéraux solubles au début du développement, d'autant plus rapide que les plantes sont moins éclairées. Dans les semaines qui suivent, les teneurs des organes se rapprochent sous les diverses intensités lumineuses et se trouvent très voisines au moment de l'apparition des fleurs. Plus tard, les tissus s'appauvrissent en minéraux solubles, — très

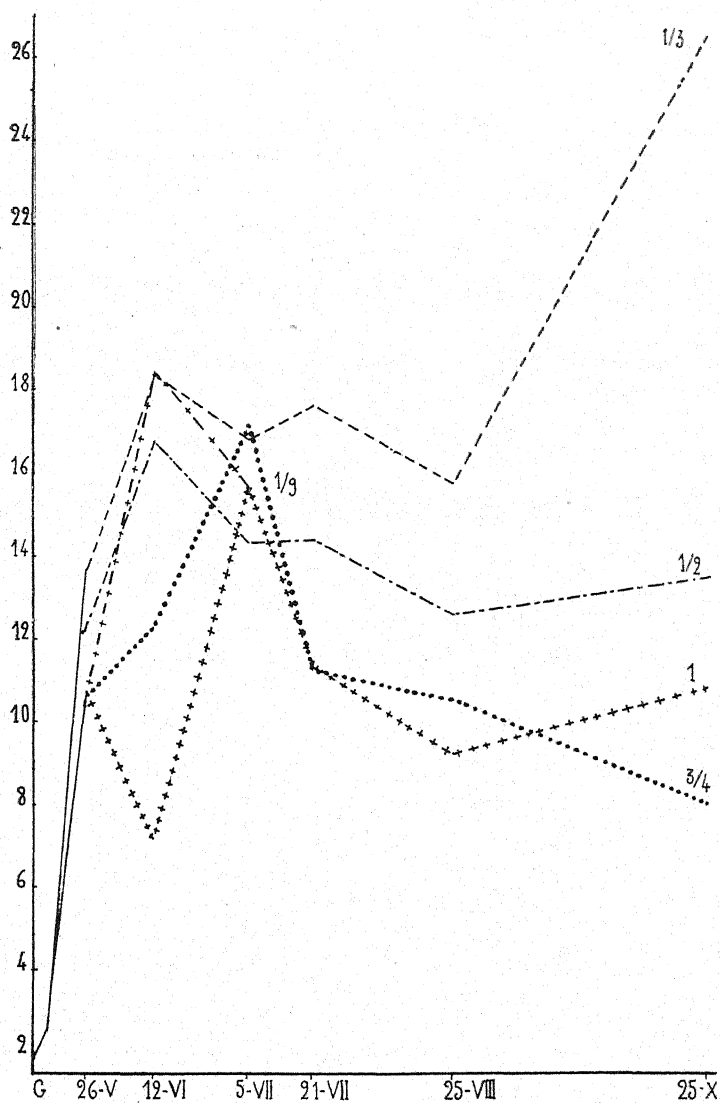


Fig. 3. — Courbes représentant les variations de la teneur des tissus en substances minérales solubles chez des Radis développés à des éclaircements différents : 1, $\frac{3}{4}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$ et $\frac{1}{9}$

notablement aux éclairements intenses 1 et $\frac{3}{4}$ — faiblement à l'éclairement $\frac{1}{2}$ — et ils s'enrichissent au contraire d'une façon considérable à l'éclairement $\frac{1}{3}$.

Les courbes de variation de la teneur des tissus en substances organiques solubles (fig. 4) mettent en évidence un enrichissement des tissus au début du développement et une baisse en fin de végétation. Le fait le plus remarquable qu'elles permettent d'établir est une accumulation très importante de substances organiques solubles dans les tissus des plantes formées à la lumière solaire totale ; cette accumulation se produit aussi à la lumière faiblement atténuée $\frac{3}{4}$, mais elle est moins considérable et plus tardive. Elle est à peine indiquée chez les plantes développées aux éclairements moyens $\frac{1}{2}$ et $\frac{1}{3}$, mais reparaît assez importante chez les individus de l'éclairement le plus faible $\frac{1}{9}$. Notons que la baisse de la teneur des tissus en substances organiques solubles a lieu de bonne heure et très rapidement aux éclairements intenses 1 et $\frac{3}{4}$; elle se situe pendant la floraison et en même temps que se produit la baisse en minéraux solubles.

Connaissant les variations de la teneur des tissus en eau, en matières minérales solubles, et en matières organiques solubles, nous allons pouvoir essayer maintenant d'expliquer les variations constatées dans la pression osmotique.

La diminution brusque et considérable de la pression osmotique des sucres de tissus qui se produit pendant les premiers jours de la germination est due à l'enrichissement progressif des plantules en eau. L'hydratation des organes est assez importante pour masquer les phénomènes de simplification moléculaire très actifs à ce stade, et que traduit d'ailleurs l'augmentation de la teneur des tissus en substances organiques et minérales solubles.

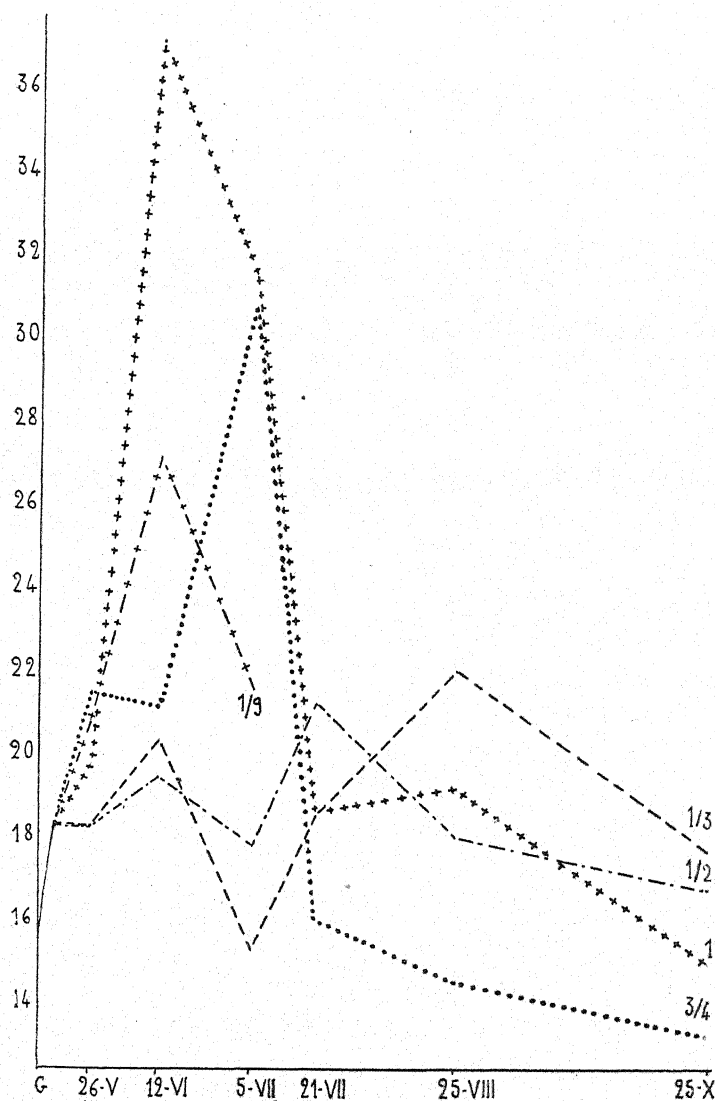


Fig. 4. — Courbes représentant les variations de la teneur des tissus en substances organiques solubles chez des Radis développés à des éclaircements différents : 1, $\frac{3}{4}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$ et $\frac{1}{9}$

L'augmentation de la pression osmotique qui se situe entre le stade des cotylédons étalés et le début de la floraison (entre le stade A et le stade C) est due à des causes différentes sous les divers éclairagements. A la lumière solaire directe elle s'explique par la forte augmentation que subit la matière organique soluble, puis par l'augmentation de la matière minérale soluble qui lui fait suite. A l'éclairement $\frac{3}{4}$ elle est corrélative d'un enrichissement des tissus en matières minérales auquel s'ajoute, avant l'apparition de l'inflorescence, l'augmentation des matières organiques. A l'éclairement $\frac{1}{2}$ elle s'explique, jusqu'au stade de quatre feuilles développées, par l'augmentation des matières solubles minérales et organiques, et plus tard par l'appauvrissement des tissus en eau, qui est peut-être accompagné d'une simplification moléculaire des substances restées en solution. Les faibles variations que l'on constate dans la pression osmotique à l'éclairement $\frac{1}{3}$ ont lieu en même temps que des variations de même sens dans la teneur en substances minérales et organiques dissoutes.

Enfin, chez les plantes de l'éclairement le plus faible $\frac{1}{9}$, c'est l'état d'hydratation des tissus qui donne leur sens aux variations de la pression osmotique, masquant les effets des changements de concentration des substances solubles. La baisse constatée pendant le développement des quatre premières feuilles est en effet corrélative de l'enrichissement des tissus en eau que continuent à subir les plantes cultivées sous cet éclaircissement. La hausse qui lui succède ne peut s'expliquer que par la déshydratation qu'éprouvent alors les tissus, et peut-être aussi par des phénomènes de simplification moléculaire possibles.

Au moment de la floraison, la baisse de la pression osmotique qui a lieu chez les plantes de l'éclairement $\frac{3}{4}$ coïncide avec une diminution des substances organiques et minérales dissoutes, et celle qui se produit un peu plus tard, chez les individus développés en pleine lumière, coïncide avec une diminution des substances minérales seules.

Enfin, l'augmentation de pression osmotique que l'on constate pendant la maturation des fruits chez les plantes cultivées aux divers éclairagements se produit en même temps que l'appauvrissement des tissus en eau, auquel vient s'ajouter pour celles des éclairagements 1 et surtout $\frac{1}{3}$, un accroissement de la teneur en minéraux solubles.

Chez tous les individus, quel que soit l'éclairément auquel ils sont soumis, la courbe de variation de la pression osmotique est, à ce stade, la contre-partie de la courbe de variation de la teneur en eau.

CONCLUSIONS

1° La pression osmotique des tissus du Radis développé à la lumière solaire totale, très élevée dans la plantule non germée, baisse brusquement au cours de la germination, puis augmente d'une façon presque continue jusqu'à la mort de la plante, la courbe de variation ne présentant qu'un accident qui correspond à la fin de la floraison.

2° Une atténuation modérée de l'éclairément n'exerce pas de modification profonde sur ces variations de la pression osmotique ; une atténuation plus prononcée (culture à une intensité lumineuse égale au $\frac{1}{3}$ de la lumière solaire directe) supprime à peu près l'accroissement de pression pendant toute la végétation, sauf à la fin de la vie de la plante. A une lumière plus faible encore ($\frac{1}{9}$) les plantes se comportent, en ce qui concerne la pression osmotique et le régime de l'eau, comme si, chez elles, le métabolisme propre à la germination se prolongeait au-delà du terme normal.

3° En ce qui concerne la teneur des tissus en matières minérales dissoutes, les individus cultivés à une lumière assez fortement atténuée ($\frac{1}{3}$ de la lumière solaire totale) se distinguent par un taux très élevé en fin de végétation.

4° Quant à la matière organique soluble, tandis qu'elle est accumulée en quantité importante au début de la végétation chez

les individus recevant beaucoup de lumière, ou au contraire très peu, elle n'atteint que des concentrations beaucoup plus faibles chez ceux qui sont soumis aux éclairagements moyens $\frac{1}{2}$ et $\frac{1}{3}$.

Ce sont les variations de la teneur en eau des tissus qui donnent leur sens aux variations de la pression osmotique au début ainsi qu'à la fin de la vie des plantes cultivées en lumière solaire totale, ou en lumière moyennement atténuée ; les modifications qui se produisent entre ces deux périodes extrêmes sont dues aux variations de la teneur des tissus en matières dissoutes, minérales et organiques. Chez les plantes cultivées en lumière très atténuée (à l'éclairement $\frac{1}{9}$) le régime de l'eau exerce son action prépondérante sur la pression osmotique pendant toute la durée de la végétation.

RECHERCHES SUR LA GÉNÉTIQUE DES ASCOMYCÈTES DU GENRE *NEUROSPORA*

par M. Fernand MOREAU et Mlle C. MORUZI

INTRODUCTION

Un certain nombre de genres de Champignons portent des noms qui sont particulièrement évocateurs des efforts tentés par les mycologues pour résoudre les énigmes de la reproduction sexuelle de ces végétaux : pour qui sait l'histoire de la Mycologie, le vieux nom de *Syzygites* éveille le souvenir de la première mention qui fut faite d'un acte sexuel chez les Champignons, il y a un siècle, par EHRENBURG [1], à l'origine des zygosporos d'une Mucorinée ; celui de *Collema* évoque les spermaties, fécondantes selon STAHL [2, 3], des Champignons des Lichens ; ceux de *Sphaerolthea*, *Pyronema* rappellent les tentatives faites par de BARY [4] pour saisir sur le vif la fécondation d'un ascogone par une anthéridie à l'origine des périthèces des Périsporiacées et des Discomycètes ; avec le *Puccinia Buri*, c'est une nouvelle période, brillante, de l'histoire de la Mycologie, que nous voyons s'ouvrir : DANGEARD et SAPPIN-TOUFFY [5] observent une fusion nucléaire dans la téléutospore de cette Urédinée et, guidé par les homologues du promycélium, des basides et des asques, DANGEARD [6, 7] retrouve dans ces derniers organes la karyogamie qui, en toute justice, portera désormais son nom. Dès

lors les mycologues se partagent en deux camps : les uns recherchent la fécondation des Ascomycètes à l'origine des périthèces, les autres la trouvent en fin de développement des mêmes organes. Les noms de *Sphaerotheca* et de *Pyronema* reviennent à nouveau dans les controverses que se livrent alors HARPER [8,9], DANGEARD [10], CLAUSSEN [11], et c'est encore auprès du *Pyronema* que s'affrontent aujourd'hui en une lutte courtoise, amicale même, les écoles rivales (12 à 18). On s'étonne que d'aussi longs efforts n'aient pas conduit les mycologues à des conclusions qui puissent satisfaire l'unanimité des chercheurs, un instant découragés devant l'impuissance des méthodes cytologiques : mais voici que la lutte entre dans une phase nouvelle et nous vivons aujourd'hui la période expérimentale de l'étude de la sexualité des Champignons supérieurs : des Champignons propres à ce genre de recherches, *Coprinus* (19 à 21), *Neurospora* (22), entrent en scène et, plus spécialement parmi les Ascomycètes, le nom de *Neurospora* demeurera peut-être le plus représentatif de cette nouvelle période de l'histoire de nos idées sur la sexualité des Champignons.

Le genre *Neurospora*, fondé récemment par SHEAR et DODGE [22] pour des Champignons dont la forme imparfaite offre les fructifications conidiennes, ou mieux oïdiennes, des *Monilia*, appartient au groupe des Ascomycètes et plus précisément à celui des Pyrénomycètes.

Une singularité de la biologie des *Neurospora* réside dans le fait que leurs ascospores ne germent souvent qu'après avoir été chauffées vers 90° pendant quelques instants ; plusieurs formes de *Neurospora* sont les hôtes des boulangeries (23) et sont la cause de larges infections de la pâte de pain qu'elles rendent inutilisable ; on s'explique leur apparition dans ces stations particulières par la température élevée à laquelle sont momentanément portées les spores en suspension dans l'air du fournil au moment où s'ouvre la porte du four où l'on va cuire le pain ; beaucoup d'ascospores sont sans doute grillées à l'entrée du four incandescent, quelques-unes reçoivent d'une action plus modérée de la chaleur l'invite au développement. De cette nécessité dans laquelle sont souvent les ascospores des *Neurospora* de subir une cuisson ménagée pour entrer en germination, résultent quelques complications dans la culture de

ces Champignons, mais lorsque cette difficulté a été écartée, le développement se poursuit aisément sur des milieux divers. Le Champignon forme souvent d'une manière exubérante des organes de propagation, qui ont la valeur d'oidies ou de blastospores, que couramment on désigne sous le nom de conidies, et qui germent facilement sans exiger aucun traitement par la chaleur. Elles sont produites nombreuses; les filaments qui les portent les répandent souvent en dehors des cultures, traversant les bouchons d'ouate des tubes, s'insinuant entre les deux parties, fond et couvercle, des boîtes de Pétri; les conidies, ténues, flottent dans l'air du laboratoire, et le *Neurospora* se retrouve à l'état d'impureté dans les cultures du voisinage; il se montre aussi envahissant pour elles que le sont les *Penicillium* par exemple. Aussi devra-t-on, dans les laboratoires où on cultive des *Neurospora*, prendre la précaution d'isoler chacune de leurs cultures, particulièrement celles en boîtes de Petri, en les enveloppant séparément dans des feuilles de papier; on détruira aussi soigneusement par la chaleur les cultures anciennes; on se méfiera également des animaux de petite taille capables de s'insinuer entre les fibres des bouchons d'ouate, de s'introduire dans les cultures et d'en sortir chargés de conidies.

Un milieu de culture s'est montré particulièrement propre au développement total des *Neurospora*; il a été préconisé dans ce but par DODGE [24] et nous l'avons utilisé dans la plupart de nos essais; c'est le maïs gélosé. Nous le préparons de la manière suivante (25, p. 42): 125 gr. de farine de maïs sont mis dans 3 litres d'eau dont on maintient la température à 60° pendant 1 heure pour hydrolyser l'amidon. Le tout est filtré sur papier; on complète à 3 litres et on additionne de 1,25 de gélose %. On chauffe pour dissoudre l'agar et on répartit dans des tubes ou dans des boîtes de Petri; on stérilise à 120°.

DODGE a montré que sur ce milieu un certain nombre d'espèces de *Neurospora* forment facilement des périthèces abondants: les uns, sans conditions particulières de semis, même en culture issues d'une seule ascospore, ce sont des espèces homothalliques, les autres en cultures mixtes, résultent de la confrontation de mycéliums appropriés, ce sont des espèces hétérothalliques. En montrant comment on peut obtenir aisément des périthèces de ces deux groupes

d'espèces de *Neurospora*, SHEAR et DODGE ont doté les mycologues d'un matériel de choix pour l'étude expérimentale de ces formations.

La facilité avec laquelle s'obtiennent les périthèces des *Neurospora* avait engagé déjà les cytologistes (14, 25, p. 57) à faire l'étude de leur développement.

Les résultats obtenus par eux peuvent se résumer ainsi : Un ascogone enroulé, multinucléé, continu puis cloisonné, aux compartiments plurinucléés, enfin uninucléés, prélude au développement du périthèce ; le champignon n'offre ni spermaties, ni anthéridies ; aucune fusion de noyaux n'a été vue dans l'ascogone ou dans les hyphes ascogènes issus de lui. Ceux-ci naissent et demeurent longtemps comme des files de cellules uninucléées, ce n'est qu'en fin de développement qu'une cellule terminale de leurs rameaux devient binucléée et se recourbe en un crochet ascogène, qui, selon le mode courant, transforme son avant-dernière cellule en un asque. D'assez nombreux asques prennent ainsi naissance dans un périthèce et huit ascospores uninucléées se forment en général dans chacun d'eux.

Plus récemment, Mlle COLSON [26] a confirmé dans ce qu'ils ont d'essentiel les résultats précédents, en émettant toutefois un doute relatif à l'absence d'une dikaryophase étendue.

Ces faits sont communs aux espèces homothalliques comme le *Neurospora tetrasperma* et aux espèces hétérothalliques comme le *Neurospora sitophila* ou le *N. crassa*. Indiquons pourtant que dans la première de ces espèces, comme DODGE [24] l'a montré, quatre spores seulement prennent naissance ; chacune d'elles, englobant deux des huit noyaux du jeune asque, équivaut à deux spores des espèces aux asques octosporés.

L'histoire qui vient d'être rapportée ne laisse aucune place à une fécondation qui aurait lieu à l'origine du périthèce ; on n'y voit aucun organe fécondant, aucune karyogamie, la seule fusion de noyaux qu'offre le développement n'intervient que tardivement, dans les jeunes asques. Ces faits sont en accord avec les idées dangardiennes.

Il est fort important de relever une contradiction entre les résultats de l'analyse cytologique et ceux auxquels conduit l'étude expérimentale de la formation des périthèces. Aucun acte sexuel,

disons-nous, ne prélude à la production de ces organes, et cependant, nous les voyons, dans les espèces hétérothalliques, se former à la suite de la confrontation de deux mycéliums, dont le rapprochement obligatoire éveille l'idée d'une copulation nécessaire à la formation des périthèces.

Cette contradiction n'est qu'apparente :

En effet, lorsqu'on cultive, isolément, l'un des mycéliums qui exige une confrontation avec un mycélium complémentaire pour que se forment des périthèces, il est fréquent qu'on voie la culture se couvrir de nombreux petits granules, qui ont l'aspect de sclérotés de petite taille, et dont SHEAR et DODGE ont déjà signalé l'existence [22]. L'un de nous [27] a montré qu'à leur origine se voient des ascogones et que les premiers stades de leur histoire sont ceux des jeunes périthèces ; ce sont des périthèces arrêtés dans leur développement. Or ces ébauches de périthèces s'observent dans les cultures séparées des deux mycéliums qui ensemble donneront lieu à la formation de périthèces ascospores ; l'un et l'autre sont pourvus d'ascogones, et si on accorde à ces derniers la valeur d'organes femelles, on est conduit à attribuer aux deux mycéliums confrontés pour former des périthèces la valeur de mycéliums l'un et l'autre femelles. Dans le langage courant, l'usage s'est introduit de les dire de « signes » contraires, ce qui ne préjuge pas de la nature de leurs différences, mais aussi de « sexes » opposés : en le faisant, il faut bien savoir que le mot de « sexe » est ici sans doute détourné de son sens habituel. Les deux mycéliums de signes contraires des *Neurospora* hétérothalliques sont porteurs d'organes réputés de même sexe, les ascogones, et si leur réunion est nécessaire pour que des périthèces prennent naissance, on n'en saurait conclure sans plus ample information qu'elle s'accompagne d'une copulation.

Or, l'aspect des cultures mixtes productrices de périthèces n'entraîne pas la conviction qu'une copulation des deux mycéliums précède la formation des organes ascospores ; il diffère en effet totalement de l'aspect des cultures mixtes par lesquelles BLAKESLEE [28] établit que chez les Mucorinées hétérothalliques les zygospores résultent de la copulation de deux mycéliums de signes opposés.

Si dans une boîte de Petri on réunit les deux « sexes » d'une Mucorinée hétérothallique, on voit se faire, à la rencontre des deux

mycéliums affrontés, une ligne de zygospores, et l'examen au microscope de ces dernières montre que les deux mycéliums prennent part, grâce à une copulation, à leur production.

L'aspect des cultures mixtes de mycéliums complémentaires des *Neurospora* hétérothalliques est bien différent. Dans certains cas, l'un des mycéliums seul forme des périthèces : en boîte de Petri, si l'ensemencement des deux mycéliums a été fait aux extrémités d'un même diamètre, une moitié de la culture est ponctuée de périthèces qui font défaut dans l'autre ; DODGE [29] et l'un de nous [25] avons présenté de telles images. Bien fréquemment, les périthèces dessinent une bande noire, placée, non à la frontière des deux territoires occupés par les mycéliums complémentaires, mais sur l'un des territoires, à quelque distance, plusieurs millimètres, de la ligne de front (Planche XVII, en haut) ; ils paraissent produits par l'un des mycéliums à quelque distance de l'autre ; souvent encore, deux lignes de périthèces se font à quelque distance de part et d'autre de la ligne de front (Planche XVII, en bas). Dans ces divers cas, il arrive qu'on observe à la rencontre des deux mycéliums une ligne de granules à la formation desquels tous deux paraissent prendre part, mais qui sont étrangers à la formation des périthèces ; il arrive aussi qu'une zone claire, où les mycéliums paraissent ne pas pénétrer, sépare les territoires de chacun d'eux.

De ces faits, il résulte que la formation des périthèces des *Neurospora* hétérothalliques bien que survenant, comme celle des zygospores des Mucorinées hétérothalliques, à la suite de la confrontation de deux mycéliums de « signes » opposés, n'est pas évidemment, comme chez ces derniers, le résultat d'une copulation entre les mycéliums confrontés.

Nos recherches [30] nous ont suggéré au contraire des rapports tout différents entre les mycéliums appariés.

Le type de nos expériences, que l'un de nous [25] a exposées dans un travail étendu, peut se schématiser ainsi :

Un milieu nutritif constitué par du moût de maïs gélosé est coulé dans un tube de verre courbé en U ; chacune des branches de ce dernier reçoit le semis d'un des mycéliums de *Neurospora* de signes opposés : les deux mycéliums se développent chacun dans la branche qui lui a été attribuée ; on constate quelques jours plus tard

que l'un d'eux montre des périthèces. A ce moment, on sectionne en deux points voisins la région moyenne du tube ; on constate que l'agar qu'elle renferme, bien que placé dans les conditions d'humidité convenable, ne donne lieu à aucun développement de mycélium.

D'une telle expérience, réalisée de nombreuses fois avec des variantes, il résulte que le mycélium du *Neurospora* n'a pas traversé la région moyenne du tube pour passer d'une branche dans l'autre, mais que c'est à distance, et probablement par l'intermédiaire d'une substance de nature hormonique, d'une harmozone, que l'un des mycéliums a invité l'autre à développer des périthèces.

Ces faits jettent une lumière nouvelle sur la question controversée de la sexualité des Champignons supérieurs. Ils ont été, de la part de DODGE et de son entourage (31 à 34), l'objet de critiques dont les unes ont une base concrète, tandis que les autres constituent des arguments d'ordre théorique.

Certaines critiques de DODGE concernent la matérialité des faits que nous avons observés et il sera facile d'y répondre :

Dans une série d'expériences faites dans des tubes en U ou en V, DODGE et ses collaborateurs ont cherché, sans succès, à reproduire les nôtres. DODGE retrouve un certain nombre de résultats qui nous étaient connus, tels que le rôle de l'aération de l'agar dans le développement du mycélium en profondeur, la pénétration aisée des mycéliums de *Neurospora* dans l'agar lorsqu'une seule des branches des tubes a étéensemencée, la non-traversée de l'agar par les mycéliums lorsque les deux branches ont reçu un semis de *Neurospora*. En utilisant des milieux aérés (l'agar n'est pas stérilisé dans le tube même qui le reçoit, mais, préparé, sans doute stérilisé, depuis plusieurs jours, il est seulement rendu liquide par la chaleur modérée et coulé dans les tubes en U au préalable stérilisés à sec) DODGE montre que les filaments mycéliens s'enfoncent profondément dans le milieu nutritif et peuvent se rejoindre dans la courbure du tube. Indiquons que nous stérilisons le milieu gélosé dans le tube même et que, par suite, les conditions sont peu favorables à une large aération des cultures, donc peu favorables au développement profond des mycéliums ; au surplus, nos observations nous ont montré que la partie moyenne de nos tubes ne montrait aucun développement mycélien.

D'autre part, DODGE, opérant avec plusieurs « races » de signes contraires de *Neurospora*, n'a pas obtenu de périthèces à la surface de l'agar des branches de ses tubes : qu'on ne s'étonne pas trop de ces insuccès. Nous avons obtenu des périthèces dans ces conditions avec plus ou moins de facilité selon les mycéliums utilisés ; les succès les plus fréquents ont été obtenus par l'emploi du *Neurospora sitophila* B, issu du Centraal Bureau voor Schimmelculturen de Baarn (Hollande) et d'un *Neurospora* originaire de la région de Bordeaux ; toutes les époques de l'année ne sont pas également propices à la production des périthèces, l'hiver se montre en général défavorable. Il existe dans le comportement des diverses souches les unes par rapport aux autres d'assez grandes variations, comme le montrent les aspects signalés plus haut des cultures doubles en boîtes de Petri : parfois la production des périthèces est unilatérale, s'étendant à toute une moitié de la culture ou restreinte à une bande étroite ; d'autres fois, elle est bilatérale. Dans certains cas, les mycéliums viennent au contact et forment des granules, dans d'autres ils paraissent séparés par une sorte de barrage. Des variations analogues peuvent se retrouver dans les rapports des mycéliums réunis dans les branches des tubes en U. Nous avons envoyé à M. DODGE une culture de notre souche de Bordeaux et nous espérons fermement qu'opérant dans des conditions voisines des nôtres, il retrouvera les mêmes résultats, et obtiendra, comme nous, des périthèces formés, en l'absence du passage des mycéliums dans la partie moyenne des tubes, à la surface même de l'agar nutritif.

DODGE signale encore que dans des cultures âgées, il observe le dessèchement de l'agar, qui se sépare de la paroi du tube, même dans la région courbée, et l'apparition de périthèces sur la surface de décollement dans la courbure du tube. Est-il utile de dire que nous avons évité l'erreur grossière contre laquelle DODGE nous met en garde : nous n'avons pas dû attendre la dessiccation du milieu nutritif pour observer la formation de nos périthèces, c'est sur des cultures jeunes, âgées de quelques jours seulement que portent nos observations.

Sachant les variations offertes dans leur comportement mutuel par les diverses souches de *Neurospora*, nous pensons pouvoir interpréter la divergence des résultats de DODGE et des nôtres en disant

que nous avons eu la chance de mettre en présence des souches propices, agissant aisément l'une sur l'autre, peut-être à la faveur d'une production plus abondante de l'harmozone hypothétique que nous soupçonnons d'être responsable de leur action mutuelle.

Les critiques qui nous sont adressées par DODGE sur le terrain doctrinal doivent maintenant être envisagées.

DODGE réunit dans une même culture deux mycéliums de *Neurospora* de signe opposé et dont l'un est conidial, l'autre aconidial. Il obtient des périthèces qu'il tient pour hybrides et qui montrent dans leurs asques quatre spores d'un sexe et quatre spores de sexe opposé, quatre spores affectées du caractère conidial et quatre spores affectées du caractère aconidial. DODGE tient le caractère du sexe (+ ou —) ainsi que le caractère conidial (C) ou aconidial (c) comme liés à des facteurs héréditaires ; il pense par suite que pour qu'une répartition de ces facteurs se fasse dans l'asque entre les spores, il faut que le noyau de fusion de l'asque renferme à la fois les facteurs allélomorphes + et —, C et c. Or, si on en croit nos recherches cytologiques, le noyau de fusion de l'asque dérive des noyaux, au nombre d'un seul par cellule, des hyphes ascogènes ; ces noyaux possèderaient donc la même constitution génétique (+ —, C c) que le noyau de l'asque lui-même, et par suite ils doivent dériver d'une karyogamie qui a rapproché dans un même noyau les gènes jusque là séparés dans les mycéliums conjugués. Par cette voie indirecte, DODGE s'efforce de prouver qu'il y a, chez les *Neurospora*, une fusion de noyaux à l'origine du périthèce, et par suite deux karyogamies successives au cours du développement : « If the cytological picture is as claimed by the Moreaus, then there must have been somewhere a nuclear fusion of haploid nuclei, followed by a fusion of diploid nuclei in the ascus as claimed by HARPER ». Nous pensons qu'il serait plus juste de dire qu'il en serait ainsi si l'hérédité des sexes + et —, et celle des caractères C ou c, suivaient les règles simples du symbolisme mendélien.

Nous espérons montrer au contraire que les faits sont plus complexes que le suppose DODGE : il nous paraît qu'un mycélium de *Neurospora* hétérothallique ne saurait être tenu comme porteur du facteur + à l'exclusion du facteur — ou inversement ; vraisemblablement, il n'est pas davantage porteur de l'un des facteurs C

ou *c* à l'exclusion de l'autre. En utilisant le symbolisme proposé par DODGE, nous dirons que, à la fois, les facteurs opposés *C* et *c*, + et — coexistent dans un même mycélium, qui se montre un phénotype conidial ou aconidial, d'un signe ou d'un autre, selon des règles de prédominance des facteurs opposés dont le jeu nous échappe.

Des cas de fertilité accrue, des irrégularités dans le comportement sexuel des mycéliums de signes contraires, des variations, portant en particulier sur la production des conidies et atteignant les mycéliums en cours de végétation ou apparaissant au moment de la formation des ascospores, nous conduiront à envisager autrement qu'on le fait actuellement le déterminisme des comportements sexuels ou des caractères conidial ou aconidial des *Neurospora*; nous écarterons par là les critiques qui nous sont opposées par DODGE sur le terrain théorique, nous parviendrons à la notion de la hipotentialité du mycélium des *Neurospora* vis-à-vis du caractère conidial ou aconidial et, par des voies différentes de celles suivies par Vandendries [35] chez les Basidiomycètes, nous atteindrons la notion de la hipotentialité sexuelle des Ascomycètes hétérothalliques.

(A suivre.)

NOUVELLES OBSERVATIONS SUR LA SEXUALITÉ DES LEVURES ET QUELQUES CONSIDÉRATIONS SUR LA PHYLOGÉNIE DE CES CHAMPIGNONS

par M. A. GUILLIERMOND

INTRODUCTION

LA SEXUALITÉ ET LE CYCLE DE DÉVELOPPEMENT DES LEVURES

A. — Position des Levures dans la classification des Champignons.

Jusqu'à l'époque où nous avons abordé leur étude (1901-1904), les Levures restaient isolées dans la classification des Champignons ; on ignorait complètement leurs affinités. BREFELD les avait considérées comme des formes d'évolution de Champignons plus évolués. REES et de BARY, au contraire, avaient été conduits à assimiler le sac sporifère des Levures à un asque et à rapprocher ces Champignons des Exoascées. DANGEARD et Em. Ch. HANSEN se rallièrent ensuite à cette opinion qui parut d'ailleurs confirmée un moment par les travaux de JANSSENS et LEBLANC ; ces auteurs avaient cru remarquer, en effet, l'existence, dans les jeunes sacs sporifères des Levures, d'une caryogamie semblable à celle décrite par DANGEARD dans l'asque des Exoascées. Toutefois, cette manière de voir ne reposait sur aucune base solide, car on était mal renseigné sur la structure des Levures et certains auteurs prétendaient que ces Champignons possédaient un noyau de type primitif ou même un noyau diffus.

B. — La conjugaison à l'origine de l'asque.

Nos recherches, dès 1901 (**11**, *a, b, c*), nous ont permis de démontrer que les Levures ont une structure en tous points semblable à celle des autres Champignons avec un noyau typique et que le sac sporifère auquel elles donnent naissance présente bien cytologiquement les caractères d'un asque, mais elles n'ont pas confirmé l'existence de la caryogamie observée par JANSSENS et LEBLANC. Par contre, elles ont démontré dans les trois représentants alors connus du genre *Schizosaccharomyces*, caractérisé par la multiplication de ses cellules par cloisonnement transversal, l'existence d'une conjugaison isogamique précédant la formation de l'asque : ce dernier se forme aux dépens d'une zygospore résultant de la fusion de deux cellules végétatives transformées en gamètes. A la même époque, BARKER (1901 [**1**]) observait le même phénomène dans une Levure se multipliant par bourgeonnement et pour laquelle il créa le genre *Zygosaccharomyces* (*Zyg. Barkeri*). A partir de ce moment un grand nombre de nouvelles espèces du même genre furent découvertes par divers auteurs et par nous-même et nous avons eu l'occasion de signaler pour la première fois, [**11**, *h, i*] dans *Zygopichia* (*Zygosaccharomyces*) *Chevalieri* (GUILLIERMOND) KLÖCKER, l'existence d'une conjugaison hétérogamique que nous avons retrouvée ensuite dans plusieurs autres Levures (*Zygosaccharomyces Nadsoni*, *Zyg. Pastori*, etc.), ainsi que dans de nombreuses espèces du genre *Debaryomyces* [**11**, *i et m*]. Enfin, NADSON et KONOKOTINE [**22**] ont découvert un genre nouveau qui a reçu le nom de *Nadsonia* (*Guilliermondia*) *Nadson* et Sydow dans lequel la zygospore formée par hétérogamie ne se transforme pas directement en asque, mais donne naissance par bourgeonnement à une cellule dans laquelle elle envoie son contenu et qui devient l'asque.

Nos recherches nous ont amené, en outre, à constater que certaines Levures appartenant aux genres *Schwanniomyces* et *Torula-spora*, qui forment leurs asques par parthénogenèse, conservent des vestiges de la sexualité primitive : chez elles, les cellules destinées à se transformer en asques et qui correspondent à des gamètes essayent, avant de sporuler, de s'unir l'une à l'autre au moyen de becs, mais sans jamais y parvenir [**11**, *i*].

C. — La phylogénie des Levures.

Ces faits ont apporté la démonstration rigoureuse que les Levures appartiennent aux Ascomycètes, mais ils n'ont pas permis de constater leur filiation avec les Exoascées qui restèrent jusque dans ces dernières années un groupe spécial d'Ascomycètes difficile à situer dans la classification de ces Champignons. L'étude que nous avons faite [11, f] ensuite d'un autre groupe d'Ascomycètes jusqu'alors à peine connu, celui des Endomycétacées, nous a apporté, au contraire, des données nouvelles et très précises sur la phylogénie des Levures.

L'un des représentants des Endomycétacées, l'*Eremascus fertilis*, offre un mycélium qui donne naissance à des asques octosporés, isolés : ceux-ci résultent de la conjugaison isogamique de deux gamètes qui sont deux prolongements latéraux formés par deux cellules contiguës du mycélium ; ces gamètes se fusionnent par leur extrémité, produisant une zygospore, qui se transforme immédiatement en asque. De ce Champignon, on passe facilement à l'*Endomycopsis (Endomyces) fibuliger* (LINDNER) Dekker dont le mycélium donne des formes-levures et des asques : ceux-ci naissent parthénogénétiquement et renferment 4 ascospores dont la forme de chapeau est tout à fait semblable à celles des Levures du genre *Hansenula (Willia)* Sydow. Au moment de la formation des asques, deux cellules contiguës du mycélium produisent chacune un prolongement latéral qui correspond à un gamète ; les deux gamètes se rejoignent par leur extrémité, mais ne se fusionnent pas et l'un d'eux forme par bourgeonnement un asque parthénogénétique. L'*End. fibuliger* conserve donc des vestiges d'une sexualité du même type que celle de l'*Eremascus fertilis*. On peut ainsi faire dériver les Levures du genre *Zygosaccharomyces* d'une forme voisine de l'*Endomycopsis fibuliger*, mais qui aurait conservé sa sexualité. Dans ces Levures, il y aurait eu suppression du mycélium, le thalle s'étant réduit à des cellules-levures, et la conjugaison se serait opérée entre celles-ci.

D'autre part, l'*Endomyces Magnusii* nous permet d'expliquer la filiation des *Schizosaccharomyces*. Ce Champignon possède, en effet, un mycélium qui se multiplie par séparation de ses articles

sous formes d'oïdies, comparables aux cellules d'un *Schizosaccharomyces*, et présente une conjugaison hétérogamique qui s'opère entre une grosse cellule du mycélium (gamète femelle) et une petite (gamète mâle). Le gamète mâle envoie son contenu dans le gamète femelle qui se transforme en une zygospore germant directement en un asque tétrasporé. On peut supposer que les *Schizosaccharomyces* ont comme origine une forme voisine de ce Champignon, mais à conjugaison isogamique : le mycélium supprimé aurait été remplacé par les oïdies et la conjugaison se produirait entre celles-ci.

On trouve d'ailleurs tous les intermédiaires entre les Endomycétacées et les Levures, si bien que, dans sa récente classification, Mme STELLING-DEKKER [28] a été amenée à réunir ces deux familles en une seule, celle des Endomycétacées qu'elle divise en quatre sous-familles, les Erémascoïdées, les Endomycétoïdées, les Saccharomycétoïdées et les Nématosporoïdées.

D. — La conjugaison entre les ascospores.

Mais le problème de la phylogénie des Levures n'était pas complètement résolu, car il existe une catégorie de Levures qui offrent un cycle de développement tout à fait différent et qui jusqu'ici les séparait de tous les autres Ascomycètes connus. Nous avons décrit, en effet, dans d'autres Levures, une autre forme de sexualité : celle-ci consiste en une conjugaison isogamique des ascospores au moment de leur germination [11, d, e]. Chez ces Levures, les ascospores se fusionnent deux à deux et la zygospore qui résulte de ce phénomène germe aussitôt en produisant de nombreuses cellules végétatives qui continuent à se multiplier activement, puis, dans les vieilles cultures, se transforment en asques. C'est ce que l'on observe dans le *Saccharomyces Ludwigii* dont les asques renferment constamment quatre ascospores, qui, au moment de germer, sont encore contenus dans la paroi de l'asque où elles se conjuguent deux à deux.

Ce mode de sexualité est très répandu chez les Levures. Nous l'avons rencontré dans *Hansenula (Willia) Saturnus* (KLÖCKER) Sydow et dans de nombreuses espèces du genre *Saccharomyces* (Levure

de *Johannisberg* II [11, e], *Sacch. Mangini*, *Chevalieri* (1), *Lindneri* [11, j], *Levure de pulque*, [11, k], *S. paradoxus* [11, p]. L'un de nos élèves, MARCHAND [19] l'a observé dans les *S. ellipsoideus*, *intermedius*, *validus*, *vini*, *Muntzii*, *Willianus*, *turbidans* et *Bayanus* et un autre, NEGRONI [24], dans une espèce nouvelle, le *S. annulatus*; dernièrement un autre, enfin, J. RENAUD [26] l'a décrit dans plusieurs races de *Saccharomyces* isolées de la fermentation des vins de Pouilly-sur-Loire (Nièvre). CAPITAINE [5] l'a signalé également dans diverses Levures de poires : sur 23 races de *Saccharomyces* isolés, cet auteur a constaté ce phénomène dans 12.

Seulement, tandis que le phénomène est presque général chez le *Saccharomycodes Ludwigii*, il l'est beaucoup moins dans les autres Levures où l'on constate toujours qu'un grand nombre d'ascospores germent isolément, sans conjugaison préalable.

E. — Levures haplobiontiques et Levures diplobiontiques.

Ainsi, au point de vue de leur sexualité, les Levures se rattachent donc à deux types très différents. Dans les uns (genres *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Zygopichia*, *Debaryomyces*, *Nadsonia*), la sexualité précède immédiatement la formation de l'asque qui résulte de la transformation d'une zygospore formée par conjugaison iso - ou hétérogamique de deux cellules végétales transformées en gamètes. Dans les autres (*Saccharomycodes Ludwigii*, *Hansenula Saturnus* et nombreuses espèces du genre *Saccharomyces*), elle est reportée à un stade ultérieur du développement et s'opère par conjugaison des ascospores au moment de leur germination. Il en résulte que ces deux catégories de Levures pré-

(1) Dans sa monographie récente des Levures, Mme STELLING-DEKKER [28] a été amenée à considérer le *S. Lindneri* comme une variété du *S. Chevalieri* sous le nom de *S. Chevalieri*, var. *Lindneri* (GUILLIERMOND) Dekker. Quant au *Saccharomyces ellipsoideus*, à la Levure de *Johannisberg* II et au *S. turbidans*, elle en fait des races du genre *S. cerevisiae* qu'elle désigne respectivement sous les noms de *S. cerevisiae*, var. *ellipsoideus* (HANSEN) Dekker, *S. cerevisiae*, var. *S. turbidans* (HANSEN) Dekker et *S. cerevisiae*, race *Johannisberg* II (WORTMANN-DEKKER). Le même auteur fait du *S. Muntzii* (KAYSER) Nagachi une race du *S. cerevisiae* et assimile le *S. annulatus* au *S. cerevisiae*.

sentent une évolution nucléaire toute différente. Etant donné qu'il est démontré que, dans tous les Ascomycètes chez lesquels les mitoses ont pu être observées avec précision, la réduction chromatique s'opère au cours des deux premières mitoses de l'asque, on doit admettre que c'est également dans l'asque que ce phénomène se produit chez les Levures, bien que la petitesse du noyau n'ait pas permis de le constater (1). Par conséquent, les Levures appartenant à la première catégorie, c'est-à-dire chez lesquelles la conjugaison précède la formation de l'asque, sont haplobiontiques (fig. 3, A), tandis que celles de la seconde catégorie chez lesquelles la conjugaison a lieu entre les ascospores sont diplobiontiques (fig. 3, B.).

Les Levures haplobiontiques se rattachent directement, comme nous venons de le voir, aux Endomycétacées, également haplobiontiques (Fig. 8, A). Par contre, les Levures diplobiontiques offrent un cycle de développement qui s'écarterait jusqu'ici considérablement de tous les autres Ascomycètes et occupait par conséquent une place à part, sans aucune liaison avec les autres représentants de ce groupe.

Entre ces deux catégories de Levures, se placent des formes chez lesquelles la sexualité a complètement disparu et qui peuvent être des formes parthénogénétiques de l'une ou de l'autre de ces deux catégories de Levures.

F. — Les affinités des Levures diplobiontiques.

On comprend donc que si nos résultats sur les Levures haplobiontiques et leur filiation avec les Endomycétacées ont passé depuis longtemps dans le domaine classique, ceux relatifs aux Levures diplobiontiques n'aient été accueillis qu'avec une certaine réserve. C'est ainsi que DANGEARD, en les analysant, s'est exprimé ainsi (1907) (6, b). « Si toutes les Levures, dit-il, fusionnaient leurs gamètes comme préliminaire à la formation de l'asque, la question de leur sexualité n'offrirait aucune difficulté. La fréquence de la

(1) Dans beaucoup de Levures, les asques ne renferment pas un nombre constant d'ascospores. C'est ainsi que dans le genre *Saccharomyces*, le nombre des ascospores oscille généralement entre 1 à 4 et dans les genres *Debaryomyces* et *Nadsonia*, les ascospores ne se forment le plus souvent qu'au nombre de 1 à 2. Mais il semble démontré que, dans tous les cas, l'asque est le siège de deux mitoses successives [22].

parthénogenèse elle-même s'explique par la nature des gamètes et la présence d'un milieu nutritif, mais il ne faut pas se dissimuler que la fusion des spores de l'asque dans tout un groupe de Levures est d'une interprétation difficile.

En ce moment, on ne peut qu'y voir une déviation de la sexualité ordinaire, une sorte de phénomène connexe à la parthénogenèse ; les noyaux des spores parthénogénétiques conservent une tendance à la fusion ; celle-ci ne s'étant pas réalisée au stade normal se trouve reportée plus loin ».

Beaucoup plus récemment dans « Die Sexualität der niederen Pflanzen » (1928), KNIEP [15] fait à propos de nos recherches sur la conjugaison des ascospores la remarque suivante : « Si, dit-il nous tenons pour exacte cette description, et d'ailleurs nous n'avons aucune raison de mettre en doute les observations précises et perspicaces de GUILLIERMOND, on doit regarder comme extrêmement remarquable le fait que chez le *Saccharomyces Ludwiggii*, la caryogamie ne s'opère pas dans l'asque, mais se trouve reportée à un autre stade. Sans doute, existe-t-il des cas chez les Ascomycètes et surtout chez les Protoascomycètes où il n'y a pas de caryogamie dans l'asque, mais alors, pour autant que nous le sachions, la sexualité fait défaut. Par conséquent, le *Saccharomyces Ludwiggii* et quelques autres espèces encore à citer constituent à cet égard un groupe isolé dans les Ascomycètes ».

G. — Relations entre les Levures diplobiontiques et les Exoascées.

Cependant les recherches récentes de Mlle WIEBEN [32] sur les Exoascées ont apporté des faits nouveaux qui nous ont paru de nature à éclaircir la question des affinités des Levures diplobiontiques. Mlle WIEBEN a réussi à cultiver *Taphrina epiphylla* et *T. Klebahnii* et a constaté que la sexualité de ces Champignons ne se trouve pas placée à l'origine de l'asque comme le soutenait DAN-GEARD, mais au début de la formation du mycélium qui donne naissance à ceux-ci, ainsi que l'avait déjà supposé JUEL. Les ascospores germent en produisant des conidies-levures et celles-ci se conjuguent deux à deux par un canal. L'une d'elles, généralement plus petite, se comporte comme le gamète mâle et envoie son contenu

dans l'autre qui correspond au gamète femelle, mais, comme cela se produit dans tous les Ascomycètes supérieurs et dans tous les Basidiomycètes, la formation de la zygospore n'est pas accompagnée de caryogamie, c'est une *cytogamie* (fig. 1, 1 à 7): les deux noyaux de sexes différents s'associent simplement en dicaryon. La zygospore binucléée ainsi formée germe aussitôt en produisant un mycélium à cellules binucléées dans lequel les deux noyaux constituant le dicaryon se divisent par mitose conjuguée à chaque partage cellulaire (fig. 1, 8). C'est aux dépens de ce mycélium que naissent les

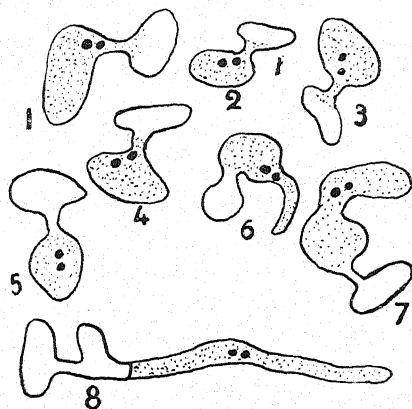


Fig. 1. — (1 à 7) Conjugaison des conidies-levures dans *Taphrina epiphylla* et début de la germination de la zygospore binucléée. 8. Germination de la zygospore dans *Taphrina Klebahnii* (d'après Mlle Wieben).

asques au début de la formation desquels seulement s'opère la caryogamie qui précède immédiatement la réduction chromatique. Mlle WIEBEN a constaté, en outre, que la réduction chromatique est accompagnée de la ségrégation des sexes et que l'asque forme une quantité à peu près égale d'ascospores de sexes différents + et —. La conjugaison ne peut se produire qu'entre des conidies-levures + provenant d'ascospores + et des conidies-levures — provenant d'ascospores —.

Ainsi, le cycle évolutif de *Taphrina ephiphylla* (1) (fig. 8, B) est

(1) Le même cycle semble se retrouver dans d'autres représentants des Exoascées, car BREFELD a montré, il y a longtemps, que, dans beaucoup d'Exoascées, les conidies-levures issues de la germination des ascospores s'anastomosent deux à deux. Cependant, il n'est pas général : MARTIN [20] a constaté, en effet,

assez semblable à celui des Levures diplobiontiques. Il n'en diffère que par le fait que, dans *T. epiphylla*, la conjugaison ne se produit pas entre les ascospores elles-mêmes comme dans les Levures ; il y a intercalation d'une génération de conidies-levures haploïdes et c'est entre celles-ci que s'opère la conjugaison. Il s'en distingue, en outre, par l'absence de caryogamie dans la zygospore et la diplophase caractérisée par des cellules à dicaryon dont les noyaux ne se confondent que dans les jeunes asques, mais il s'agit là d'un caractère qui paraît s'être établi secondairement.

Aussi, à la suite des travaux de Mlle WIEBEN, avons-nous tenté (1931) [11, p] d'établir un rapprochement entre les Levures diplobiontiques et les Exoascées (Comparez le schéma B de la figure 3 avec le schéma B de la figure 8).

Il subsistait cependant pour ce qui concerne les Levures diplobiontiques quelques points à éclaircir. Il y avait lieu de se demander si ces Levures sont homo - ou hétérothalliques. Nous avons vu que, dans le *S. Ludwigii*, les asques renferment constamment 4 ascospores et que la conjugaison s'effectue régulièrement entre les deux paires d'ascospores contenues dans un même asque. Cela laisserait supposer que la ségrégation des sexes est liée à la réduction chromatique et que chaque asque forme 2 ascospores + et 2 ascospores —. D'autre part, on pouvait s'étonner, dans les autres Levures diplobiontiques, du nombre souvent considérable d'ascospores qui germent isolément : parmi ces Levures, il y a des espèces où la majorité des ascospores ne germent qu'après conjugaison, d'autres où la conjugaison ne se produit guère que pour la moitié des ascospores, d'autres enfin chez lesquelles il n'y a que le quart des ascospores qui se conjuguent. La conjugaison des ascospores est d'ailleurs rendue plus difficile que dans le *S. Ludwigii* par le fait que les asques renferment un nombre d'ascospores variant de 1 à 4 : la conjugaison ne peut donc se produire régulièrement que dans le cas où les asques ont un nombre pair d'ascospores ; lorsque les ascospores sont au nombre de 3 seulement, il faut nécessai-

que les conidies-levures de *T. deformans* reproduisent directement sans conjugaison un mycélium uninucléé qui ne devient binucléé qu'un peu avant la formation des asques. Dans cette espèce, la sexualité, c'est-à-dire la formation des dicaryon précède presque immédiatement la formation de l'asque. *T. deformans* tend donc à devenir haplobiontique : il est de plus homothallique, car une seule ascospore peut en germant reproduire un mycélium porteur d'asques.

rement que l'une d'elles germe isolément, à moins qu'elle ne parvienne à se conjuguer avec une ascospore se trouvant dans un asque contigu, ce qui arrive parfois.

Nous avons considéré ces ascospores germant isolément comme des gamètes se développant par parthénogenèse et nous avons admis qu'il existait, parmi ces Levures diplobiontiques, des formes manifestant une tendance à la parthénogenèse. Cette manière de voir d'ailleurs s'appuyait sur le fait que, dans les Levures haplobiontiques, certaines formes manifestent une tendance bien nette à la parthénogenèse. Nous avons observé avec beaucoup de précision en chambre humide le processus de conjugaison des ascospores et nous nous étions attachés à étudier surtout la caryogamie qui l'accompagne, mais jamais l'idée ne nous était venue de suivre la destinée des cellules provenant des ascospores germant isolément, convaincu qu'il s'agissait d'un phénomène de parthénogenèse. D'ailleurs, à l'époque où nous avons fait ce travail, on ne savait pas que la sexualité peut chez un même Champignon ne pas opérer constamment au même stade du développement.

H. — Travaux récents sur les Levures diplobiontiques.

Dès 1918, KRUIS et SATAVA [16], puis SATAVA [27] ont orienté la question vers une autre voie. Reprenant nos travaux sur la conjugaison des ascospores dans plusieurs espèces de *Saccharomyces* (*S. ellipsoideus*, *S. Pastorianus*, *S. cerevisiæ*, etc...), ces auteurs ont montré que, dans tous les cas où les ascospores germent isolément, les cellules haploïdes auxquelles elles donnent naissance se conjuguent et fournissent des zygosporos qui sont le point de départ de nombreuses générations de cellules diploïdes, se distinguant des premières par leurs dimensions plus élevées. Le travail de ces savants écrit en tchèque est resté complètement ignoré jusqu'à ces derniers temps et aucune allusion n'en a été faite ni dans « Vergleichende morphologie der Pilze » de GÄUMANN (1925), ni dans « Die Gärungsorganismen » de KLÖCKER (1925), ni dans « Die Sexualität der niederen Pflanzen » de KNIEP (1928), ni dans « Die Hefesammlung des Centraal-Bureau voor Schimmelcultures » de Mme STELLING-DEKKER (1931) et nous ne l'avons nous-même connue que par une visite de M. SATAVA en 1934. Toutefois, WINGE [33] vient de confir-

mer sur divers *Saccharomyces* (*S. ellipsoideus*, *validus*, *Marchalianus* (1) et la Levure de Johannisberg II) les résultats de ces auteurs dont il n'a eu d'ailleurs connaissance qu'après avoir achevé ses recherches.

Ce savant a démontré par des observations très précises que ces Levures ont une conjugaison qui s'opère parfois entre les ascospores elles-mêmes, mais le plus souvent entre les premières cellules haploïdes provenant du bourgeonnement des ascospores. Il en résulte donc que les ascospores qui germent isolément ne peuvent être considérées comme se développant par parthénogénèse. WINGE a constaté, en outre, que ces Levures sont homothalliques et qu'une seule ascospore est capable de donner naissance à des cellules haploïdes pouvant se conjuguer et former des zygosporos. Il a enfin montré que la conjugaison est toujours accompagnée de caryogamie, confirmant ainsi les observations importantes que nous avons faites sur diverses Levures et entre autres sur la Levure de Johannisberg II et qui s'appliquent aussi bien aux conjugaisons produites entre les ascospores qu'à celles qui s'opèrent entre les cellules haploïdes formées par les ascospores germant isolément : car, dans les préparations fixées, il est impossible de distinguer ces deux sortes de conjugaisons (2). Ces recherches ont été communiquées en septembre dernier par WINGE au Congrès international de Botanique d'Amsterdam.

(1) Le *S. Marchalianus* est considéré par Mme STELLING-DEKKER, au même titre que le *S. ellipsoideus*, comme une variété du *S. cerevisiae* et désigné sous le nom de *S. cerevisiae*, var. *Marchalianus* (KUFFERATH) Dekker.

(2) Nos observations sur la caryogamie avaient été effectuées sur des ascospores en voie de germination prélevées à des intervalles réguliers (12 heures, 19 heures, 24 heures). Il est évident que celles faites sur des ascospores prélevées au bout de 12 heures ne montraient que des conjugaisons produites entre les ascospores elles-mêmes, car la conjugaison des cellules provenant du bourgeonnement des ascospores qui germent isolément ne s'opère qu'entre 12 et 24 heures. Mais les autres montraient à la fois des conjugaisons d'ascospores et des conjugaisons de cellules issues de la germination des ascospores. Il est possible parfois de distinguer, dans les préparations, les conjugaisons produites entre les ascospores parce que celles-ci s'opèrent souvent avant la gélification de la paroi de l'asque qui les renferme et que la zygosporos qui en résulte est formée par deux cellules accolées, soudées à leur partie supérieure par canal étroit. Les zygosporos provenant de la conjugaison de cellules issues du bourgeonnement des ascospores sont, au contraire, formées par deux cellules plus ou moins éloignées réunies par un long canal. Mais ceci n'a rien de constant et il est toujours très difficile de distinguer sur des préparations ces deux types de conjugaisons.

OBSERVATIONS PERSONNELLES

Les faits très importants apportés par les recherches de KRUIS et SATAVA et par celles toutes récentes de WINGE nous ont amené à entreprendre de nouvelles recherches sur le sujet.

Nos recherches, qui ont porté sur deux Levures : le *Saccharomyces Ludwigii* et le *Saccharomyces paradoxus*, ont consisté à la fois, en l'observation de la germination des ascospores de ces Levures en chambre humide de Van TIEGHEM et LE MONNIER et en l'étude cytologique de frottis fixés et colorés des divers stades de cette germination.

A. — Observation en chambre humide de Van Tieghem et Le Monnier.

a) *Technique.* — Nous avons procédé de la manière suivante : nous avons effectué une suspension dans l'eau stérilisée d'une culture renfermant de nombreux asques obtenus sur gélose de Gorodkova ou sur tranche de carotte, puis nous avons introduit une goutte de cette suspension dans un cristalliseur contenant de la gélose de Sabouraud glucosée fondue, mais légèrement refroidie ; nous l'avons secouée pour disséminer les asques et à l'aide d'un agitateur nous avons placé des gouttes de cette gélose fondue sur des lamelles avec lesquelles nous recouvrons des chambres humides de VAN TIEGHEM et LE MONNIER.

Lesensemencements effectués de cette manière dans la matinée ne permettent pas de suivre la germination des ascospores. Celles-ci, même à 25°, gonflent seulement pendant la journée et ce n'est que dans la nuit que s'opère la germination et la formation des zygospores. L'ensemencement doit être fait le soir vers 19 heures. Les chambres

humides sont laissées à la température du laboratoire de manière à ralentir la germination. Le lendemain vers 9 heures, les ascospores gonflées pendant la nuit sont prêtes à germer et il suffit de fixer des chambres humides sous l'objectif d'un microscope, de repérer avec un oculaire à réticule un ou plusieurs asques et de les observer à intervalles réguliers, environ toutes les demi-heures. On peut ainsi suivre tous les phénomènes de germination et de conjugaison qui se déroulent dans la journée. L'observation étant assez délicate demande toujours à être faite à l'immersion.

b) *Saccharomyces Ludwigii*. — Nous avons consacré d'abord quelques observations nouvelles au *Saccharomyces Ludwigii*. Nous avons dit que les asques de cette Levure renferment constamment quatre ascospores et que celles-ci se conjuguent normalement deux à deux. Les ascospores sont soudées deux à deux dans l'asque par une lame réfringente, reste de l'épiplasma ; elles forment donc deux couples distincts et ce sont presque toujours les deux ascospores d'un même couple qui se conjuguent. La conjugaison s'opère dans l'intérieur de l'asque avant la gélification de sa paroi. Les deux ascospores d'un même couple forment chacune à l'un de leur pôle un petit bec et la soudure des deux becs ainsi formés, suivie de résorption de la paroi, détermine la formation d'un canal unissant les deux ascospores. Les zygospores qui résultent de ce phénomène sont très faciles à reconnaître, puisque les deux ascospores fusionnées par l'une de leurs extrémités restent soudées l'une à l'autre par une lame réfringente au-dessous du canal qui les unit. En outre, en germant, les ascospores ne subissent pas, dans cette Levure, un gonflement aussi considérable que dans les autres espèces : elles ne deviennent jamais polyédriques, mais restent rondes et conservent une paroi plus épaisse que celle du canal qui les unit. Lorsque la zygospore commence à germer, elle forme un tube assez allongé, qui s'élargit peu à peu en s'étrangeant légèrement à sa base, et, au niveau de l'étranglement, apparaît la cloison transversale séparant la première cellule diploïde formée par la zygospore (la multiplication de cette Levure s'opérant, comme on le sait, par un processus intermédiaire entre le bourgeonnement et le cloisonnement). Les zygospores ont donc, au début de leur germination, un aspect tout à fait caractéristique : elles sont triangulaires, formées de deux petits

renflements ronds séparés par une lame réfringente et surmontées, dans leur partie fusionnée, d'un court tube germinatif. Il est, par conséquent, très facile de les reconnaître et la simple observation d'ascospores, en voie de germination, prélevées d'une culture, ou l'étude de préparations fixées et colorées suffisent pour s'assurer que la conjugaison ne se produit jamais qu'entre ascospores.

Néanmoins, nous avons tenu à obtenir une preuve plus précise de ce fait, en suivant sous le microscope, en chambre humide de VAN TIEGHEM et LE MONNIER, la germination des ascospores de cette Levure. Ces observations nous ont permis de constater que la conjugaison ne se produit bien effectivement qu'entre les ascospores. Les rares ascospores qui ne se conjuguent pas et germent isolément appartiennent à des asques dont une ou plusieurs ascospores sont inaptes à germer. Parfois, ces ascospores donnent naissance à un très long et mince tube de germination comme si elles cherchaient à s'unir avec l'ascospore d'un asque voisin. Parfois, le tube réussit à s'anastomoser avec une ascospore appartenant à un autre asque ; dans le cas contraire, il cesse de croître et peut alors dégénérer ou bien se segmenter en cellules végétatives qui jamais ne se conjuguent entre elles. Il est donc certain que dans le *Saccharomyces Ludwigi*, la conjugaison s'opère constamment entre les ascospores et jamais entre les cellules haploïdes provenant du bourgeonnement des ascospores qui germent isolément. Ces dernières, d'ailleurs assez rares, doivent donc bien être considérées comme des ascospores germant par parthénogenèse. Ainsi le *Saccharomyces Ludwigi* ne se comporte pas comme les espèces du genre *Saccharomyces* étudiées par KRUIS et SATAVA, puis par WINGE.

Il resterait à savoir si cette Levure est hétérothallique. Il serait vraisemblable de l'admettre, comme nous l'avons dit, étant donné que chaque asque renferme 4 ascospores et que ce sont les ascospores d'un même asque qui se conjuguent deux à deux. On pourrait penser que la ségrégation des sexes s'opère au cours de la réduction chromatique de l'asque, en sorte que chaque asque renfermerait deux paires d'ascospores de sexes différents. Certains faits seraient en faveur de cette opinion. C'est ainsi, par exemple, que la conjugaison s'effectue presque toujours, comme nous venons de le voir, entre les deux ascospores d'un même couple à parois soudées par une lame réfringente. D'autre part, lorsque l'une des ascospores d'un même

couple est inapte à germer, l'autre cherche généralement à s'unir avec l'ascospore correspondante de l'autre couple.

Toutefois, ce ne sont là que de vagues présomptions, car il se peut aussi que la ségrégation des sexes s'opère pendant le gonflement des ascospores, comme cela a lieu à l'état d'anomalie chez le *Schizosaccharomyces octosporus*. Nous avons démontré [11, o], en effet, que, dans cette Levure haplobiontique et homothallique dans laquelle les cellules dérivées de la germination d'une seule ascospore sont capables, après un plus ou moins grand nombre de cloisonnements, de se conjuguer et de former des asques, la ségrégation n'est pas en relation avec le cloisonnement. En effet, on peut amener des ascospores une fois gonflées à se conjuguer directement entre elles sans aucune multiplication préalable, en les plaçant dans des conditions défavorables : il se produit alors un raccourcissement du développement consistant en la suppression de la phase végétative. C'est ainsi que des ascospores encore contenues dans la paroi de l'asque, peuvent se conjuguer deux à deux et produire des asques dans l'intérieur de l'ancien asque. Cela prouve donc que la ségrégation des sexes résulte de modifications internes des cellules déterminées par les conditions physico-chimiques du milieu. Pour résoudre cette question dans le *Sac. Ludwigii*, il faudrait isoler un grand nombre d'ascospores à l'aide du microdissecteur et les confronter, opération très délicate que nous n'avons pas tentée jusqu'ici.

c) *Saccharomyces paradoxus*. — Pour ce qui concerne les Levures du genre *Saccharomyces*, la germination des ascospores est précédée d'un gonflement considérable de celles-ci qui deviennent polyédriques et se soudent avec la paroi de l'asque par leurs faces externes et entre elles par leurs faces se trouvant au contact l'une de l'autre. Les ascospores ensuite prennent la dimension et la forme des cellules végétatives ordinaires, en sorte qu'il est facile de confondre des zygosporos provenant de la conjugaison directe des ascospores avec des zygosporos résultant de la fusion de deux cellules issues du bourgeonnement d'ascospores ayant germé isolément.

C'est donc sur ces Levures qu'ont porté surtout nos recherches et nous avons choisi, pour leur étude, le *Saccharomyces paradoxus*, isolé par Mlle BATSCHINKAIA [2] des sécrétions muqueuses d'un Frêne de Russie. Cette Levure présentait un intérêt particulier

parce qu'elle avait été en ce qui concerne son développement l'objet d'une interprétation inadmissible. Mlle BATSCHINSKAIA avait décrit, en effet, dans cette Levure, deux conjugaisons successives : l'une se produisant entre les ascospores, la seconde entre les premières cellules issues de la germination des zygosporos formées par cette première conjugaison et encore réunies à elles ; celle-ci fournirait de nouvelles zygosporos qui seraient le point de départ de nombreuses cellules végétatives. Dans des recherches ultérieures, NADSON et KRASSILNIKOW [23] avaient montré qu'il pouvait se produire, dans cette Levure, une sorte de réversibilité entre la formation de l'asque et la germination des ascospores : l'asque fournit de 2 à 4 ascospores et celles-ci, au moment de la germination, pourraient se fusionner les unes aux autres pour reconstituer une seule cellule. Cette fusion est accompagnée d'une fusion des noyaux en un seul et les auteurs semblent lui attribuer la valeur d'un acte sexuel. Par contre, NADSON et KRASSILNIKOW ne parlaient pas des stades ultérieurs de la germination et de la seconde fusion cellulaire dont la signification restait inexplicable.

Dans une étude faite en 1931 [11, p], nous avons établi par l'observation de la germination des ascospores de cette Levure en chambre humide de VAN TIEGHEM et LE MONNIER que, dans un grand nombre de cas, les ascospores se conjuguent deux à deux et que la zygosporos qui résulte de cette fusion donne lieu aussitôt par bourgeonnement successif à une colonie de levures, mais qu'on n'observe en aucun cas une seconde conjugaison entre les cellules de cette colonie. Dans d'autres cas, les ascospores germent isolément, mais nous n'avons suivi que les premiers stades de leur germination, admettant qu'il s'agissait là de parthénogenèse. Ainsi nos observations ne nous avaient donc pas permis de confirmer l'interprétation de Mlle BATSCHINSKAIA.

Cette levure présente, en outre, une grande facilité pour l'étude de la germination des ascospores, car elle est très sporogène et il est facile d'obtenir de nombreux asques sur gélose de Gorodkova, sur tranches de carotte ou sur bloc de plâtre. Ceux-ci renferment de 1 à 4 ascospores, mais le plus souvent 4.

Nous avons procédé pour cette Levure par la méthode indiquée précédemment. Des ascospores mises à germer sur gouttelettes pendantes de gélose de Sabouraud en chambre humide de VAN

TIEGHEM ET LE MONNIER, le matin, se gonflent peu à peu et, à la fin de la journée, peuvent commencer à former leurs premiers bourgeons. Déjà, en fixant sous l'objectif une chambre humide et en

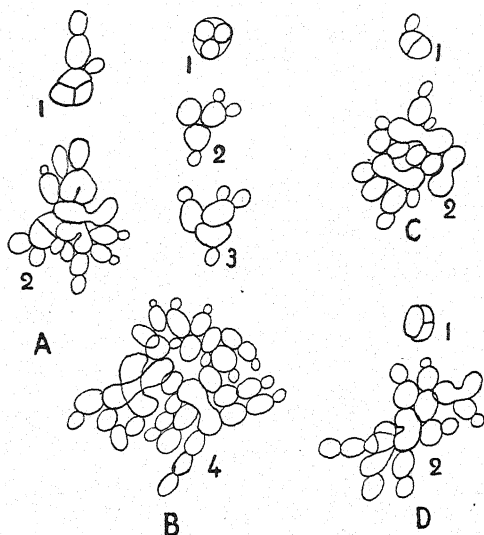


Fig. 2. A — 1. Asque à 3 ascospores ensemencé sur chambre humide de VAN TIEGHEM ET LE MONNIER, le 27 novembre à 9 heures, observé à 19 heures : l'une des ascospores a déjà fourni 3 cellules haploïdes. 2. — *Idem*, le 28 novembre à 9 heures : les ascospores ont donné une colonie avec 3 zygospores. On aperçoit encore deux des ascospores soudés par leur face en contact.

B — 1. Asque à 3 ascospores ensemencé sur chambre humide de VAN TIEGHEM ET LE MONNIER, le 17 novembre à 9 heures ; 2, le même à 14 heures : deux ascospores commencent à germer isolément ; 3, *id.* à 18 heures : la troisième ascospore a formé son premier bourgeon ; 4, *id.*, le 19 novembre à 9 heures : les ascospores ont fourni une colonie d'assez nombreuses cellules parmi lesquelles on distingue 3 zygospores.

C — 1. Asque à 2 ascospores, ensemencé sur chambre humide de VAN TIEGHEM ET LE MONNIER, le 18 novembre, à 9 heures, observé à 19 heures ; l'une des ascospores a commencé à bourgeonner. 2. — *id.*, le 19 novembre, à 9 heures : les ascospores ont formé une colonie de cellules parmi lesquelles on distingue 2 zygospores.

D — 1. Asque ensemencé sur chambre humide de VAN TIEGHEM, le 16 novembre, à 9 heures ; 2, *id.*, le 17 novembre à 9 heures : les ascospores ont formé une colonie parmi laquelle on remarque 3 zygospores.

repérant le soir un asque dont les ascospores sont gonflées ou ont commencé à former leurs premiers bourgeons, il est possible de constater que la conjugaison ne s'opère pas toujours entre les ascospores elles-mêmes, mais qu'elle se produit souvent entre les cellules

haploïdes provenant du bourgeonnement de celles-ci. Le lendemain matin, en effet, les ascospores ont donné d'assez nombreuses cellules issues de leur bourgeonnement et l'on constate toujours parmi celles-ci un certain nombre de zygosporos qui ne proviennent certainement pas de la conjugaison des ascospores : celles-ci sont en effet en plus grand nombre que celles qui pourraient se former par conjugaison des ascospores. C'est ce que montre, par exemple, la figure 2 où, en A, un asque à trois ascospores a donné naissance à une colonie de cellules parmi lesquelles on remarque trois zygosporos. Des phénomènes analogues se retrouvent dans les figures B et C et D.

Mais ce sont là des observations imprécises et pour pouvoir suivre toutes les phases de la germination des ascospores et de la conjugaison, il est nécessaire de procéder comme nous l'avons indiqué, c'est-à-dire, d'effectuer l'ensemencement le soir vers 19 h. Le lendemain matin, vers 9 h., les ascospores gonflées dans la nuit sont prêtes à germer et il est facile de suivre tous les processus de leur germination et de la formation des zygosporos qui s'accomplissent dans la journée.

Les ascospores gonflées dans la paroi de l'asque apparaissent avec une forme polyédrique : si elles sont au nombre de 3 ou 4, leurs parois étant intimement soudées entre elles sur leurs faces en contact et soudées à la paroi de l'asque sur leur face libre. Les ascospores lorsqu'elles sont seulement au nombre de deux montrent leur paroi libre également soudée à celle de l'asque et leurs faces de contact intimement réunies l'une à l'autre simulant la cloison transversale d'une cellule venant de se diviser.

Dans beaucoup de cas, la conjugaison s'opère entre les ascospores elles-mêmes : celles-ci, avant la gélification de la paroi de l'asque, se fusionnent deux à deux par résorption d'une partie de leur paroi soudée l'une à l'autre et formation d'un canal reliant les deux ascospores (Pl. XVIII, fig. B, C, E et Pl. XXIV, A, B, C, F). La zygosporos ainsi formée germe aussitôt en produisant par bourgeonnement une série de cellules diploïdes qui restent réunies à la zygosporos en une petite colonie. Quant à la paroi de l'asque, elle se gélifie dès le début du bourgeonnement de la zygosporos. Parfois la conjugaison s'effectue entre deux ascospores appartenant à des asques différents accolés l'un à l'autre (Pl. XXV A.). Mais très fréquemment aussi les ascospores germent sans conjugaison. Cela

se produit nécessairement lorsque l'asque est isolé et ne renferme qu'une ascospore ou, pour l'une des ascospores, lorsque celles-ci sont au nombre de 3 dans l'asque. Mais le phénomène a lieu aussi très souvent dans les asques à 2 ou 4 ascospores.

Dans le cas où les ascospores germent isolément, elles donnent naissance, par bourgeonnement, à un petit nombre de cellules haploïdes qui lorsqu'elles ont acquis leur taille définitive ne tardent pas à se conjuguer deux à deux pour former des zygospores. Celles-ci germent aussitôt en produisant de nombreuses générations de cellules diploïdes (fig. 2). Ce sont ces cellules qui, dans les vieilles cultures, formeront les asques. Toutefois, toutes les cellules issues de la germination des ascospores ne se conjuguent pas et il en reste toujours un certain nombre qui demeurent haploïdes : il est probable que ce sont celles-ci qui, dans les cultures âgées, sont asporogènes. La conjugaison peut s'opérer entre les cellules provenant d'une même ascospore (Pl. XIX, A ; Pl. XXV, B ; Pl. XXVI, A) ou d'ascospores différentes. (Pl. XIX, B, Pl. XXVII, A). Souvent, elle s'effectue de très bonne heure entre les deux ou trois premières cellules formées par une ascospore (Pl. XIX, A, B ; et Pl. XX, A, B ; Pl. XXI, A, B ; Pl. XXV, B, C.), parfois même entre une ascospore et l'une des cellules issues de son bourgeonnement, (Pl. XX, B ; Pl. XXI, A, B ; Pl. XXII, A), souvent la première (Pl. XIX, C ; Pl. XXIV, D), ou même entre deux ascospores qui ont déjà fourni une ou plusieurs cellules-filles (Pl. XVIII, D ; Pl. XX, C ; Pl. XXI, C). Mais elle peut se produire aussi entre les cellules haploïdes provenant d'un assez grand nombre de bourgeonnements à partir de l'ascospore (de la troisième à la dixième génération) (Pl. XXVI, A.).

L'observation d'asques à deux ascospores germant aux pôles opposés au point de jonction de leur paroi en contact ou d'asques à une seule ascospore permet de s'assurer que la Levure est homothallique : une seule ascospore donne naissance à des cellules capables de se conjuguer et de fournir des zygospores (Pl. XIX, A, C ; Pl. XX, A, B ; Pl. XXV, B).

Nous n'avons, par contre, jamais observé de différences très appréciables de taille entre les cellules diploïdes issues du bourgeonnement des zygospores et les cellules haploïdes provenant du bourgeonnement de l'ascospore contrairement à ce qu'ont

constaté KRUIS et SATAVA et WINGE dans les Levures étudiées par eux. Le *S. paradoxus* offre deux sortes de cellules : les unes ovales ou arrondies, les autres allongées et souvent disposées en files : ces deux sortes de cellules sont capables de sporuler et n'ont pas de relation entre l'état diploïde ou haploïde. Cependant, il semble que

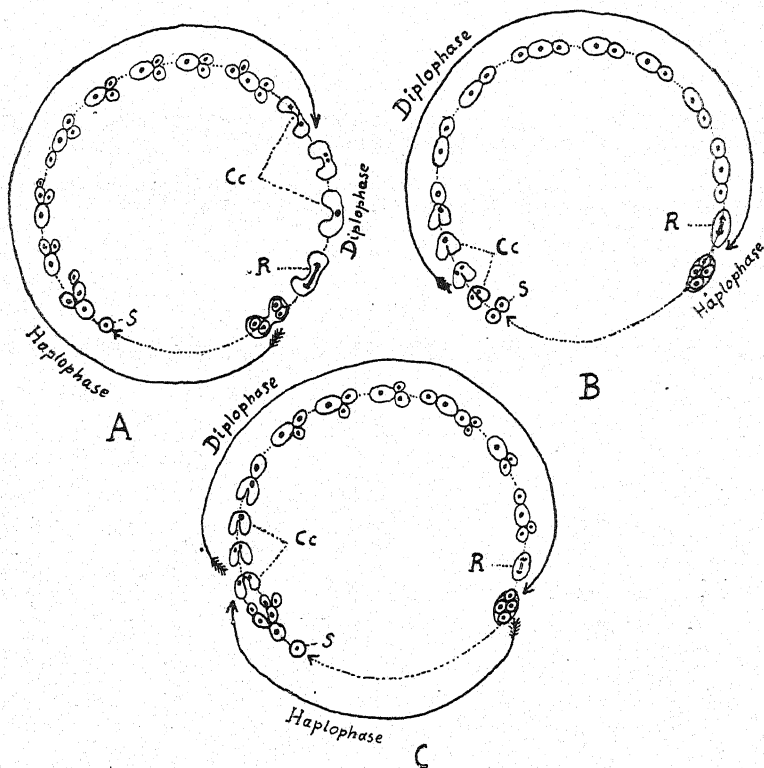


Fig. 3. A. — Schéma du cycle de développement d'un *Zygosaccharomyces*. S : ascospore. Cc : conjugaison et caryogamie. R : réduction chromatique. B. — Schéma du cycle de développement du *Saccharomyces Ludwigii*. S : ascospore. Cc : conjugaison et caryogamie. R : réduction chromatique. C. — Schéma du cycle de développement d'un *Saccharomyces*. S : ascospore. Cc : conjugaison et caryogamie. R : réduction chromatique.

les cellules diploïdes soient légèrement plus grosses que les cellules haploïdes.

Ainsi, il résulte de ces faits bien établis aujourd'hui par les résultats convergents obtenus par KRUIS et SATAVA, par WINGE et par nous-même qu'entre les Levures haplobiontiques à conjugai-

son précédant la formation de l'asque (*Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, etc.) (fig. 3, A) et les Levures diplobiontiques chez lesquelles la conjugaison s'opère constamment entre les ascospores (*Saccharomyces*) (fig. 3, B), il existe de nombreuses Levures appartenant au genre *Saccharomyces* qui occupent une position intermédiaire entre les deux premières catégories et dans lesquelles la conjugaison peut s'effectuer entre les ascospores elles-mêmes, mais s'opère plus souvent entre les premières cellules haploïdes issues du bourgeonnement des ascospores : il peut donc y avoir, dans ces Levures, intercalation d'une ou de plusieurs générations de cellules haploïdes avant la conjugaison ; il y a acheminement vers une alternance de génération (Fig. 3, C). L'existence de cette conjugaison (1) signalée dans la plupart des espèces du genre *Saccharomyces* semble générale chez ces Levures et ne justifie donc pas la classification de Mme STELLING-DEKKER qui considère le genre *Zygosaccharomyces* comme un sous-genre rentrant dans le genre *Saccharomyces*. Une révision des *Saccharomyces* s'impose donc et justifiera à coup sûr une séparation complète des genres *Saccharomyces* et des *Zygosaccharomyces*.

Ces faits expliquent l'erreur de Mlle BATSCHINKAIA, qui, sans doute, n'ayant pas suivi avec une suffisante attention tous les stades successifs de la germination des ascospores, a cru à l'existence de deux conjugaisons successives dans le cycle du *S. paradoxus*, l'une entre les ascospores, l'autre entre les premières cellules issues du bourgeonnement de la zygospore formée par la première. Cette erreur est très facile à commettre dans un asque où les ascospores se conjuguent après avoir donné naissance à une série de cellules haploïdes qui se sont fusionnées pour produire de nombreuses zygospores.

En plaçant sur bloc de plâtre des asques à ascospores gonflées par un séjour de 12 heures dans du moût de bière gélosé, on constate que les ascospores ne fournissent qu'un très petit nombre de cellules haploïdes : celles-ci se conjuguent aussitôt et les zygospores qui

(1) Nous avons fait connaître dans la Levure de pulque n° 2 [11 k], l'existence d'une conjugaison d'ascospores s'opérant d'une manière un peu aberrante: il est certain que dans cette Levure, la sexualité doit s'opérer surtout entre les cellules haploïdes dérivées du bourgeonnement des ascospores et il serait intéressant de l'étudier à nouveau ; malheureusement nos cultures n'ont pu être conservées et cette Levure n'existe dans aucun laboratoire.

résultent de ce phénomène ne donnent lieu qu'à la formation d'une ou deux cellules diploïdes qui évoluent immédiatement en asques ; ces zygospores peuvent se transformer elles-mêmes directement en asques et parfois même cette transformation s'opère aux dépens

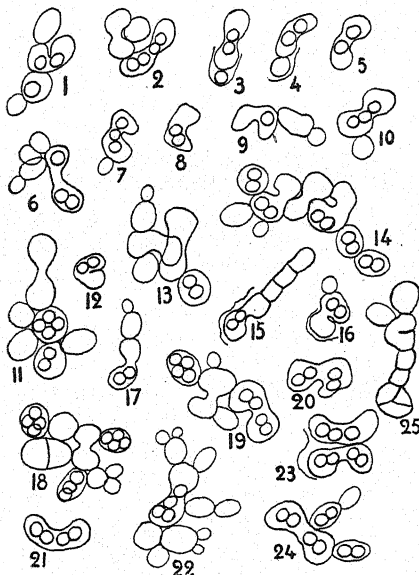


Fig. 4. — Ascospores de *Saccharomyces paradoxus*, gonflées et ayant commencé à germer pendant un passage de 24 h. dans du moût gélosé, puis placées sur un bloc de plâtre. Les zygospores peuvent se transformer directement en asques présentant l'aspect des asques d'un *Zygosaccharomyces*. D'autres fois, elles donnent naissance à quelques cellules diploïdes qui, elles, se transforment aussitôt en asques, en même temps que les zygospores dont elles dérivent. Dans quelques cas, des zygospores provenant de la conjugaison de 2 ascospores peuvent se transformer directement en asques (fig. 3 et 4 où l'on voit encore la paroi de l'ancien asque). Dans la fig. 15, on voit un asque, à 4 ascospores, formé aux dépens d'une cellule allongée et dont 3 ascospores sont gonflées et dont la quatrième a fourni un premier bourgeon avec lequel elle s'est fusionnée pour donner une zygospore qui s'est transformée en asque : on voit encore les restes de la paroi de l'ancien asque ; 25, deux asques, l'un à 4 ascospores dont 2 ont germé après conjugaison, l'autre à 3 ascospores, gonflées, mais n'ayant pas encore commencé à germer.

des zygospores issues de la conjugaison directe des ascospores. Les asques ont alors la même forme que ceux d'un *Zygosaccharomyces*, avec deux renflements unis par un isthme étroit (Fig. 4). Cette transformation directe des zygospores provenant de la conjugaison des ascospores, que nous n'avions pu obtenir dans nos précédentes

recherches, explique le phénomène décrit par NADSON et KRASSILNIKOW, bien que jamais dans ces conditions nous n'ayons constaté la fusion de plus de deux ascospores (1). Il y a donc, en ce cas, un raccourcissement du cycle évolutif.

Rappelons à ce sujet, que dans le *Schizosaccharomyces octosporus* [11, e, o], nous avons constaté autrefois et confirmé récemment que les ascospores une fois gonflées peuvent, si elles sont placées

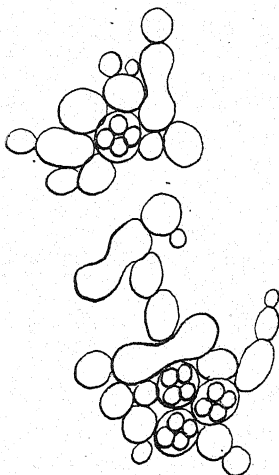


Fig. 5. — Colonies dérivant de la germination de zygosporées formées en chambre humide sur gélose de Gorodkova : les cellules diploïdes se sont transformées rapidement en asques.

dans de mauvaises conditions d'alimentation, se conjuguer directement, sans multiplication préalable, pour former de nouveaux asques, dans la paroi même de l'asque dans lequel elles sont enfermées. HANSEN avait constaté, d'autre part, que des ascospores de la levure de JOHANNISBERG II, gonflées et placées sur blocs de plâtre, peuvent, après s'être conjuguées, se transformer directement en asque et nous avons retrouvé le même phénomène dans le *Saccharomyces Ludwigii* [11, e] et dans la Levure de pulque n°2 [11, k].

(1) Il est à remarquer que des observations faites à un grossissement insuffisant peuvent amener à des erreurs d'interprétation et faire croire que les ascospores gonflées et soudées les unes aux autres sont toutes fusionnées.

D'ailleurs, en suivant les colonies de cellules issues de la germination des zygospores sur chambre humide sur gélose de GORODKOWA, on constate qu'au bout de peu de temps, ces cellules, se trouvant dans des conditions défavorables, cessent leur bourgeonnement et se mettent à sporuler, alors qu'elles sont encore unies les unes aux autres autour de la zygospore qui leur a donné naissance (fig. 5).

Dans les vieilles cultures sur carotte, on trouve des asques dont les ascospores germent en retard alors que les conditions sont

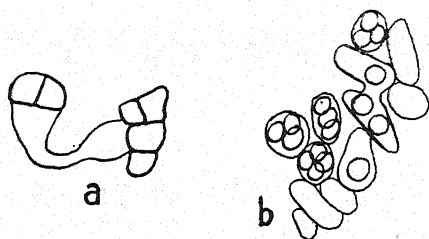


Fig. 6. — a) Conjugaison produite entre l'ascospore d'un asque à 3 ascospores (à gauche) avec le bourgeon formé par l'ascospore d'un autre asque (à droite), à 4 ascospores, sur tranche de carotte. b) Asques formés sur le même milieu dont l'un s'est formé aux dépens d'une zygospore.

devenues défavorables et qui se conjuguent soit directement entre elles, soit avec la première cellule-fille issue de leur germination. Parfois même, dans ces asques dont beaucoup d'ascospores ne germent pas, la conjugaison peut se produire entre des ascospores ou des cellules haploïdes issues du bourgeonnement d'ascospores appartenant à des asques voisins (Fig. 6, a). Il arrive presque toujours que, dans ces germinations tardives, les zygospores se transforment en asques (fig. 6, b), directement ou après avoir formé une ou deux cellules diploïdes.

(A suivre)

RÉACTIONS DES FRUITS AUX BLESSURES EXPÉRIMENTALES

par M. Roger ULRICH

(Suite.)

DEUXIÈME PARTIE RECHERCHES MICROSCOPIQUES SUR LA CICATRISATION

CHAPITRE PREMIER TECHNIQUES HISTOLOGIQUES ET MICROCHIMIQUES

La transformation des tissus voisins de la lésion en tissus cicatriciels a été étudiée en utilisant les techniques histologiques et microchimiques courantes. Chaque fois que cela m'a été possible, j'ai examiné la moitié de la région cicatrisée aussitôt après la récolte et l'autre moitié après fixation, inclusion et coloration. Rarement les observations ont porté sur du matériel conservé dans l'alcool ou le formol très étendu.

En ce qui concerne l'histologie, les fixateurs utilisés ont été les mélanges de BOUIN, HELLY, REGAUD et MEVES dont je rappelle ci-dessous la composition et la durée d'action :

BOUIN : sol. aq. sat. d'acide picrique : 120 parties ; formol : 20 parties ; acide acétique : 4 parties (7 jours).

HELLY : eau dist. 100 gr. ; $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$ crist. 2 gr. 5 ; HgCl^2 , 5 gr. ; ajouter au moment de l'emploi 1/10^e du volume de formol neutre (7 heures env.).

REGAUD : $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$ en sol. aq. à 2% : 8 parties ; formol neutre : 2 parties ; mélanger au moment de l'emploi (4 jours environ).

MEVES : dissoudre 2 gr. d'acide chromique dans 100 cc. d'eau ; dissoudre 0 gr. 5 d'acide osmique dans 25 cc. d'eau ; mélanger les deux solutions (8 à 10 heures environ).

A la sortie des trois derniers liquides, les échantillons ont été soumis à un lavage à l'eau courante (24 heures), puis deshydratés et inclus en paraffine.

Les coupes confectionnées au microtome ont été colorées par l'une ou l'autre des techniques suivantes :

1° Hématoxyline, soit de HEIDENHAIN, soit de REGAUD avec ou sans coloration du fond par l'Eosine ou l'Erythrosine.

2° Solution aqueuse de safranine à 1% ; les coupes y séjournent suivant les cas de 1 à 3 jours ; lavage ; régression rapide dans l'alcool à 50° additionné d'une trace d'acide chlorhydrique. La chromatine, les membranes lignifiées, la cutine, la subérine se colorent en rouge. Le fond peut être coloré ensuite au glychémalun de MAYER.

L'examen du matériel frais a comporté des colorations vitales et des réactions microchimiques. Les coupes effectuées à main levée dans les régions cicatrisées sont placées, les unes dans du liquide de Ringer (1), d'autres dans ce même liquide additionné d'une très faible quantité de bleu de crésyl ou de rouge neutre.

Les réactions effectuées sur matériel frais en vue de préciser l'évolution chimique des régions meurtries ont porté sur les membranes (cellulose, pectiques, amyloïde, lignine, subérine, cutine), et sur le contenu cellulaire (phénols, amidon, corps gras). Les réactions utilisées sont classées ci-dessous ; on trouvera dans ce tableau l'indication des substances qu'elles permettent de caractériser, la composition des réactifs et quelques indications bibliographiques.

I. — ETUDE DES CONSTITUANTS DES MEMBRANES (2)

A. — COMPOSÉS PECTIQUES

a) *Elimination des composés pectiques par macération des coupes dans un liquide convenable.*

1° Traitement successif par l'acide chlorhydrique et la potasse ou la soude (MIRANDE [157] ; TUNMANN [235], p. 566).

(1) Composition : NaCl 6 gr. ; KCl 0 gr.075 ; CaCl_2 0 gr.10 ; NaCO_3H 0 gr.10 ; eau dist. 1.000 gr.

(2) Il est utile de vider les coupes préalablement dans l'eau de Javel.

2° Chauffage dans une solution concentrée de saccharose (35-65%); dissolution de la pectine (ROSENBERG [204]; VAN WISSE-LINGH [261], p. 72).

3° Mélange de SCHULZE, ClO^3K , 3 parties, NO^3H (d : 1,16) 20 parties (GAUCHER [70], p. 150).

4° Oxalate d'ammonium à 0,5% à froid, 24 à 48 h. (TUPPER-CAREY et PRIESTLEY [236]).

5° Eau oxygénée officinale diluée de moitié, à froid, 24 à 48 h. (KISSER).

b) *Coloration.*

1° Rouge de ruthénium. Sol. aq. très diluée.

2° Bleu de méthylène. Sol. aq. étendue.

3° Safranine : coloration orangée des pectiques; coloration rouge des membranes lignifiées, subérifiées, cutinisées.

4° Hématoxyline alunée : coloration violette des composés pectiques (MANGIN) et des membranes ni lignifiées, ni subérisées, ni cutinisées (GILTAY [76]).

5° Méthode de PETIT et DEVAUX : traitement des coupes par $(\text{SO}^4)^3\text{Fe}^3$ dilué, lavage à l'eau distillée, lavage à l'acide acétique faible, passage dans FeCy^6K^4 dilué; adsorption du Bleu de Prusse par les composés pectiques (DEVAUX [51]).

6° ZnCl^2 iodé : coloration jaune non spécifique (ROSENBERG [204]).

7° Violet neutre : Sol. aq. étendue, action prolongée; pectiques colorés en brun rouge, lignine et subérine en violet (GODFRIN [77]).

c) *Examen en lumière polarisée* : pectiques obscurs entre nicols croisés (FREY-WYSSLING [64], p. 87).

B. — CELLULOSE

1° SO^4H^2 concentré dissout la cellulose et les pectiques.

2° Eau iodée (1), puis SO^4H^2 70% env. : coloration bleue de la cellulose et gonflement (TUPPER-CAREY [236]).

3° Eau iodée, puis ZnCl^2 concentré (ZnCl^2 : 2; H^2O : 1) (TUN-MANN [235], p. 550), coloration bleue de la cellulose et de certaines

(1) Eau iodée : iode 1 gr.; KI : 4 gr.; eau dist. 300 cc.

hémicelluloses (LÜDTKE [135], p. 350) ; dichroïsme en lumière polarisée.

4° Hématoxyline alunée ; coloration violette ainsi qu'avec les composés pectiques (GILTAY [76]).

5° Membranes cellulosiques éclairées entre nicols croisés (FREY-WYSSLING [64], p. 87).

C. — AMYLOIDE ET COLLOSE.

1° Eau iodée : coloration bleue des membranes renfermant de l'amyloïde.

2° Eau iodée additionnée du quart de son volume d'HCl (Réactif de ZIEGENSPECK). Coloration bleu gris des membranes colloïdiques plus nette après traitement des coupes par l'eau de Javel (KASSELMANN [106]).

D. — LIGNINE.

1° Phloroglucine chlorhydrique : sol. alcoolique concentrée de Phloroglucine additionnée au moment de l'usage d'un peu d'HCl ; membranes lignifiées violettes ; réaction positive avec de nombreux produits phénoliques (CZAPEK [47 bis], p. 593), avec la « gomme de blessure » (FREY-WYSSLING [64], p. 75).

2° Safranine : sol. aqueuse à 1% puis régression par l'alcool chlorhydrique ; coloration rouge cerise des membranes lignifiées, de la cutine, de la subérine.

3° Solubilité dans CrO_3 à 50% (non spécifique), réaction lente (VON HÖHNEL).

4° Réaction de MÄULE :

Coupes 1/4 d'heure dans MnO_4K 1%, passées ensuite dans l'eau, puis dans HCl étendu jusqu'à disparition de la teinte rose ; coupes sur lame dans une goutte d' NH_4OH ; bois coloré en rose ou en rouge. Réaction inconstante (CASPARIS [37]).

5° Sulfate d'aniline sulfurique ; les coupes sont placées dans une solution alcoolique concentrée de sulfate d'aniline additionnée de quelques gouttes d' SO_3H_2 . Les membranes lignifiées sont colorées en jaune.

E. — LIÈGE (1)

1° Potasse concentrée (Réaction de VON HÖHNEL) : à chaud, formation de boules et de masses granuleuses jaunes (VAN WISSELINGH [259]).

2° $\text{ClO}^3\text{K} + \text{NO}^3\text{H}$ (Réaction de l'acide cérique) : formation de globules fusibles à 30° (VAN WISSELINGH [259, 261]).

3° CrO^3 concentré (50%) à froid (VON HÖHNEL). Tout se dissout sauf le liège et la cutine (VAN WISSELINGH [259]).

4° SO^4H^2 concentré à froid : dissout les membranes sauf le liège et la cutine et certaines membranes imprégnées de résines ou altérées (TSCHIRCH [231], p. 178).

5° Cyanine glycérinée. Formule de ZIMMERMANN [269] : volumes égaux de sol. concentrée de cyanine dans l'alcool à 50°, et de glycérine. Chauffer sur lame : le liège se colore en bleu ainsi que la lignine.

6° Soudan III. Sol. concentrée dans l'alcool à 70° ; coloration rouge intense de la subérine et de la cutine, jaunâtre des membranes lignifiées.

(AP Sudan de CZAPEK : voir Graisses).

7° Acide osmique : coloration noirâtre qui peut se produire aussi avec les membranes lignifiées (ZIMMERMANN [269]).

8° Bleu d'indophénol (Technique mentionnée par DUFRÉNOY [57]) :

1° fondre au bain-marie 0 gr.5 de thymol dans 100 cc. d'eau, ajouter 0 cc.5 de KOH à 33% ;

2° dissoudre 0 gr.5 de chlorhydrate de diméthylparaphénylènediamine dans 50 cc. d'eau, décolorer par la potasse goutte à goutte ;

3° mélanger des volumes égaux des solutions précédentes et ajouter les coupes.

Coloration bleue de la cutine et de la subérine.

9° ZnCl^2 iodé, coloration brune non spécifique (positive avec cutine, lignine, etc.).

(1) Ici le traitement par l'eau de Javel est indispensable pour éliminer les tanoïdes (ZIMMERMANN [269]).

II. — ÉTUDE DU CONTENU CELLULAIRE

A. — AMIDON

Eau iodée : coloration bleue plus ou moins foncée.

B. — CORPS GRAS

1^o Soudan III en solution concentrée dans l'alcool à 70°. Coloration rouge des graisses neutres, des essences, des résines, des cires. Coloration faible des acides gras libres et des savons (WATTIEZ et STERNON [245], p. 71).

2^o AP Sudan de CZAPEK [46] beaucoup plus sensible que le Soudan ordinaire. Eau dist. : 8 parties ; alcool amylique tertiaire : 2 parties ; pyridine : 1 partie ; ajouter du Soudan solide ; laisser reposer ; filtrer.

Les coupes sont laissées jusqu'à 24 heures dans le réactif puis lavées à l'eau distillée et examinées en glycérine.

3^o Acide osmique ; utilisé ici seulement sous la forme de fixateur de MEVES ; coloration brune ou noire des gouttes de graisses et d'essences. Les tanoïdes forment des précipités noirâtres.

C. — TANOÏDES

1^o Fe^2Cl^6 concentré à froid ; précipité ou coloration noirâtre. Réaction non spécifique (CZAPEK [47 bis], p. 499), négative avec certains tanoïdes de fruits (WINCKEL [255]).

2^o $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$, sol. aqueuse à 5%.

Précipité brun avec les tanoïdes, le pyrogallol, la pyrocatechine, l'acide gallique, divers alcaloïdes, etc. Précipitation gênée par les acides organiques (TUNMANN [235], p. 254).

3^o Caféine, sol. aqueuse à 0,1%.

Réactif très sensible. Précipité blanc ou granulations incolores à mouvements browniens (GUILLIERMOND [83]).

4^o Réactif de BRÆMER.

Une partie tungstate Na, 2 parties acétate Na, eau dist. 10 parties.

Précipité fauve spécial aux tanoïdes ; coloration jaune pâle

en présence d'oxyflavones (GUILLIERMOND [83]); précipité brun en présence d'acide gallique (MOLISCH [162]). Réaction empêchée par une forte acidité (*ibid*, p. 173).

5° Réactif de COURTONNE.

Acétate neutre de Pb. 30 gr.; eau dist. 60 gr.; neutraliser en ajoutant goutte à goutte de l'acide acétique; compléter à 100 cc. avec de l'eau distillée. Précipité blanc ou rose avec les tannoïdes, jaune ou ocre avec les dérivés oxyflavoniques, vert ou rouge avec les composés anthocyaniques (GUILLIERMOND [83]).

6° Iode. Coupes peu fraîches placées 24 heures dans un tube renfermant 1 cristal d'iode et un peu d'eau; les tannoïdes précipitent en brun (MOLISCH [162], p. 174 : Réaction de SPERLICH).

D. — *PHLOROGLUCINOL* et dérivés.

1° Réactif de LINDT.

Vanilline 0 gr. 05; alcool 5 gr.; eau 5 gr.; HCl concentré 30 gr.

Précipité rouge avec le phloroglucinol, les phloroglucotanoïdes et de nombreux phénols (TUNMANN [235], p. 379).

2° Réactif de JOACHIMOWITZ.

SO⁴H² concentré : 8 gr. 5; eau 8 gr. 5; p. diméthylaminobenzaldéhyde : 0 gr. 5;

Précipité rouge avec le phloroglucinol, les phloroglucotanoïdes; réactif plus sensible que le précédent (JOACHIMOWITZ [102]).

3° HCl dilué.

Une coupe présentant des tissus riches en phloroglucinol et placée dans ce réactif montre une coloration rouge de ses membranes lignifiées. Localisation impossible du phénol.

Les techniques ci-dessus ont été appliquées essentiellement à des fruits de Pêcher, d'Abricotier, de Cognassier, de Pivoines, d'Iris, de Lierre et de Groseillier; à chaque espèce sera consacré un chapitre.

J'utiliserai les termes *épicarpe* et *endocarpe* comme synonymes d'épidermes externe et interne du fruit, la région intermédiaire étant le *mésocarpe* (Nomenclature de RICHARD).

Comme j'aurai fréquemment l'occasion de faire allusion à l'évolution des composés pectiques au cours de la maturation, je rappelle

dès maintenant que les travaux de FRÉMY [63], de TSCHIRCH [233 et 234] et de ROSENBERG [204] ont montré que le ciment de pectose reliant étroitement les cellules du jeune fruit se transforme plus tard en pectine (1). La métamorphose chimique est accompagnée d'un gonflement et d'un amollissement de la partie moyenne des membranes ; celui-ci permet aux cellules du mésocarpe gorgées de suc de s'isoler les unes des autres ; elles deviennent plus ou moins sphériques et laissent entre elles des méats.

(1) La pectose de FRÉMY est la « protopectine » de TSCHIRCH.

CHAPITRE II

RECHERCHES SUR LA PÊCHE

(*Prunus Persica. Stokes*).

1. Le fruit normal

Sur une pêche d'environ 30 mm. de diamètre transversal maximum (1) on distingue nettement en partant de la surface externe, les tissus suivants :

1° *Epicarpe*. — Ses cellules sont fréquemment prolongées en poils inégaux cutinisés. Cette inégalité est due à la formation de poils nouveaux pendant la croissance du fruit (GARCIN [67], p. 216). Les autres cellules épidermiques, petites, sont riches en tanoïdes. A l'approche de la maturité, certaines renferment de l'anthocyane; GUILLIERMOND [83] a constaté que la caféine produit dans leurs vacuoles un précipité abondant adsorbant le colorant, et que fréquemment le pigment se présente en sphérocristaux.

2° *Parenchyme sous-épidermique à petites cellules*. — Sur un fruit de 30 mm. de diamètre environ on peut distinguer nettement dans cette zone, du côté coloré du fruit, deux régions différentes :

a) Vers l'extérieur des cellules riches en pigment anthocyannique et en tanoïdes ;

b) Vers l'intérieur du parenchyme fortement chlorophyllien. C'est dans cette dernière région que l'amidon est le plus abondant chez le fruit jeune (20 à 30 mm.) ; cette réserve disparaît au cours de la maturation.

3° *Parenchyme à grandes cellules*. — Cette partie du fruit est

(1) C'est toujours ce diamètre transversal maximum qui sera indiqué dans la suite comme repère du stade de développement des fruits (sauf pour les Iris et les Pivoines).

plus pauvre en chlorophylle que la précédente et modérément riche en phénols. Le cytoplasme est réduit dans les cellules à une mince couche pariétale limitant une grande vacuole colorable par les colorants vitaux qui y provoquent souvent une précipitation. L'A.P. Sudan colore de fines gouttes lipidiques dans le cytoplasme. Au cours de la maturation, le ciment intercellulaire s'amollit et gonfle pendant que les cellules deviennent sphériques et s'isolent : c'est la métamorphose pectique. Sur les fruits jeunes (environ 20 mm.) l'amidon est parfois abondant, mais toujours moins que dans la région sous-épidermique. Dans le mésocarpe circulent des vaisseaux spirales. Les lacunes gommeuses y sont fréquentes dans les fruits non blessés et toujours très voisines des vaisseaux ligneux.

4° *Parenchyme interne à petites cellules.* Ce tissu d'abord mou, prend une consistance cartilagineuse puis se lignifie et devient le noyau de la pêche. La lignification est nette et les membranes sont ponctuées sur le fruit plus âgé (environ 30 mm.). Ces petites cellules sont plus riches en phénols que les grandes de la zone 3. Au sein de ce tissu serait située une assise génératrice (CAVE [39]).

5° *Endocarpe.* — Ses cellules sont allongées.

L'oxalate de calcium est rare ; on peut l'observer cependant dans certains fruits jeunes (ex. : 25 mm.), observation déjà relatée par NIETHAMMER [174 et 177]. Le même auteur a noté l'abondance de phénols précipitables par la vanilline chlorhydrique, la présence de tanoïdes, de composés oxyflavoniques ; j'ai constaté également l'existence de ces produits dans les fruits examinés. La liqueur de FEHLING détermine, dans les cellules, un précipité abondant d'oxydule qui peut être attribué à la richesse du fruit en sucre interverti (BUIGNET [31] ; WEHMER [247]).

2. L'évolution des tissus normaux en cicatrice.

Si la blessure est effectuée sur un fruit ni trop jeune ni trop évolué, elle cicatrise et les étapes de la guérison sont toujours les mêmes quel que soit le diamètre initial du fruit. Nous allons chercher à préciser cette évolution de la région lésée.

Le traumatisme détermine d'abord la mort des cellules directement blessées et celle de cellules sous-jacentes jusqu'à une certaine profondeur. Puis, sous cette région mortifiée, certaines cellules

modifient leur membrane avant d'entrer en nécrobiose (ligno-subérisation (1). Plus tard enfin apparaît une zone de divisions cellulaires où se différencie une assise génératrice de liège. Pour mettre de l'ordre dans ces diverses réactions nous les classerons de la façon suivante :

- A. — Nécrobiose des cellules superficielles ;
- B. — Différenciation des cellules ligno-subéreuses ;
- C. — Apparition de divisions cellulaires et d'une assise génératrice ;
- D. — Les tissus secondaires nés de cette assise. Le Liège.

A. — *Nécrobiose des cellules superficielles.*

Les cellules amputées par le rasoir sont évidemment les premières à mourir. Je n'en ai jamais vu reconstituer une membrane et survivre. Très rapidement les cellules sous-jacentes entrent aussi en nécrobiose et un nombre variable de couches de cellules de plus en plus profondes meurent ainsi les unes après les autres pendant 1 à 3 jours, suivant les conditions extérieures. TISON [229], BERTRAND [16, 17] ont désigné sous le nom de *parenchyme* ou de *tissu sacrifié* ces couches de cellules qui meurent pendant que se prépare en profondeur une ligne de défense. BERTRAND emploie aussi le terme d'« *escarre* » emprunté à la médecine [17]. WYLIE préfère l'expression « *pseudocicatrice* » [265] qu'on rencontre dans ses travaux sur la cicatrisation des blessures de feuilles. J'utiliserai indifféremment les termes précédents.

Le terme de nécrobiose est utilisé ici pour désigner les transformations observables dans des cellules s'acheminant plus ou moins vite vers une mort inévitable (définition de VERWORN [239], p.408). Remarquons qu'il est pratiquement impossible de séparer des dégénérescences nécrobiotiques les altérations qui suivent la mort.

Dès les deux premiers jours qui suivent l'ablation, on observe une contraction des cellules. Les membranes pectocellulosiques se rident, se plissent, manifestant ainsi une perte de turgescence due à une déshydratation du contenu cellulaire (fig. 8). En surface, cette contraction est telle que les membranes et leurs contenus écrasés finissent par constituer un magma compact. Sur les fruits opérés

(1) Expression empruntée à TISON [229].

jeunes, on retrouve, dans cette croûte, des grains d'amidon. La contraction des cellules fait croire à un enrichissement en amidon comparativement au parenchyme normal, surtout net sur les coupes colorées à l'hématoxyline. Là, en effet, le cytoplasme mort se teint fortement en noir ainsi que les plastes et les noyaux tandis que l'amidon reste incolore. La contraction de la zone sacrifiée apparaît plus nettement encore lorsqu'un faisceau normal à la blessure s'y trouve engagé; après avoir fait légèrement saillie à la surface par

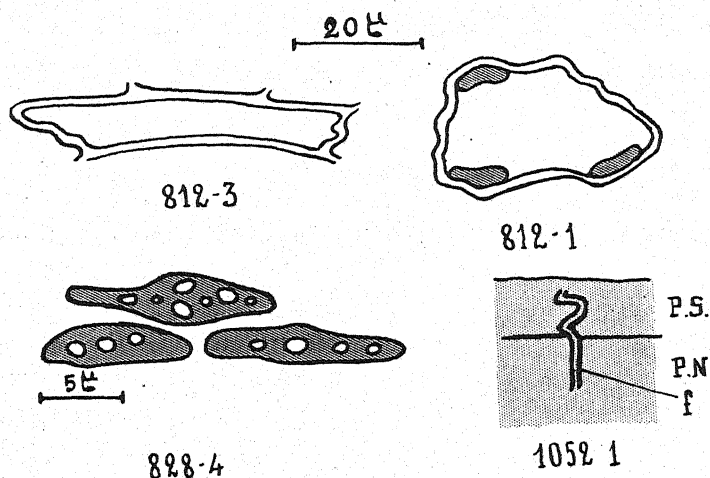


Fig. 8. — Parenchyme sacrifié (Pêche).

812-3, 812-1 : cellules déformées (BOUIN).

828-4 : cellules contractées à contenu coloré par l'hématoxyline ; en blanc, grains d'amidon (BOUIN).

1052-1 : schéma d'un faisceau ligneux déformé : PS : parenchyme sacrifié ; PN : parenchyme normal ; f : faisceau.

suite de sa rigidité, il a pris une forme sinueuse, entraîné par les tissus voisins (fig. 8).

La zone mortifiée présente fréquemment en même temps qu'une contraction, une coloration brune plus ou moins sombre. Cependant, dans certains cas, une semaine après l'opération, les chloroplastes sont encore verts. Les noyaux observables sont pycnotiques. Dès le troisième jour, l'escarre déjà compacte fixe assez fortement l'hématoxyline. Pour y distinguer les couches de parenchyme constitutantes, on peut la déplier par chauffage dans la potasse.

Assez souvent la région mortifiée est envahie par des saprophytes qui tendent à gagner les couches plus profondes : ce sont des bactéries ou des champignons.

Les poils coupés au moment de l'opération se déforment et s'aplatissent fréquemment (fig. 9).

Si on laisse au fruit plus de temps pour cicatriser, on peut voir les cellules mortes s'aplatir par suite de tensions dues à la croissance, et même après plusieurs semaines (26 jours par exemple), l'escarre se fragmente et on n'en retrouve plus que des lambeaux. Au cours du développement du fruit, l'amidon disparaît du mésocarpe vivant

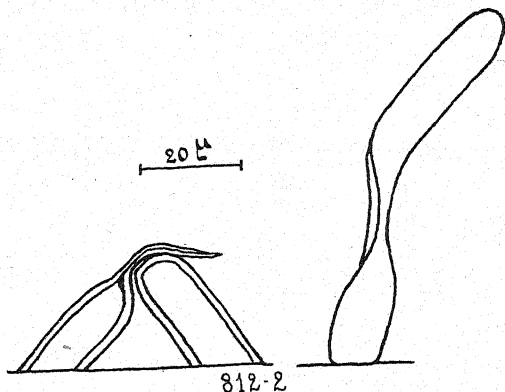


Fig. 9. — Déformation des poils lésés (Pêche).

tandis qu'on le retrouve toujours dans les cellules sacrifiées. Ceci n'a pas lieu évidemment si la blessure est réalisée sur un fruit déjà gros (30 mm. par ex.) dépourvu d'amidon dès le début de l'expérience.

Les membranes restent toujours pecto-cellulosiques et se colorent vivement en bleu par les réactifs iodés de la cellulose ; la nécrobiose semble trop rapide pour permettre à la cellule de lignifier ou de subériser ses parois.

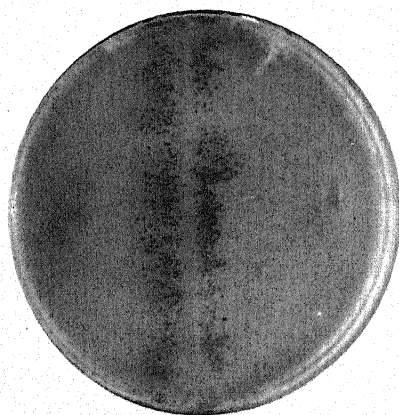
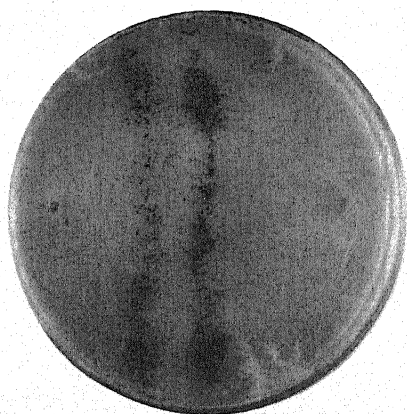
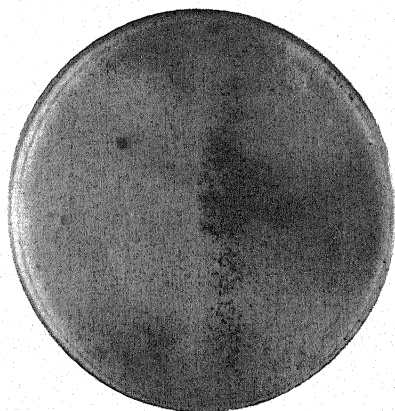
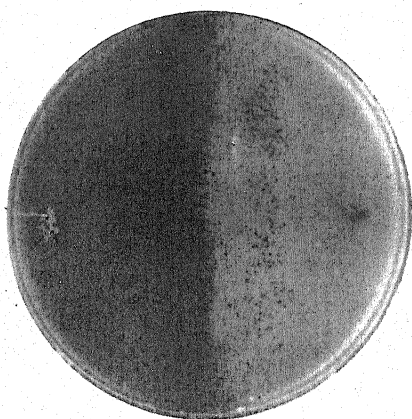
On retrouve souvent dans l'escarre des poches remplies de gomme. La formation de celle-ci ne résulte pas directement du traumatisme car de telles poches se trouvent dans le fruit non blessé ; la gommose du fruit correspond à un état maladif de la

plante entière (1). La blessure met en communication certaines lacunes avec l'extérieur, et la gomme perle à la surface (fig. 2) ou recouvre celle-ci plus ou moins largement. Dans cette masse gommeuse externe végètent souvent des champignons filamenteux.

Les vaisseaux aboutissant à la blessure sont parfois fermés par un bouchon safraninophile (828-4).

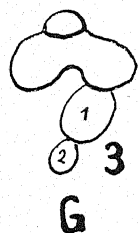
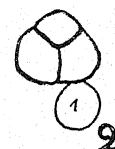
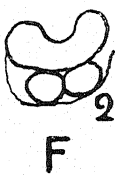
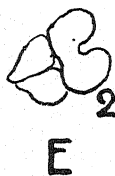
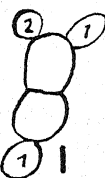
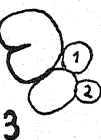
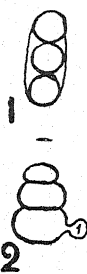
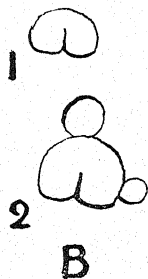
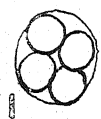
Il se réalise certainement aussitôt après l'opération des variations d'acidité du suc cellulaire car, sur le bord des coupes, le rouge neutre colore les vacuoles soit en rouge (virage acide) soit en orangé (virage alcalin) tandis que la teinte est franchement rose ailleurs.

(à suivre).



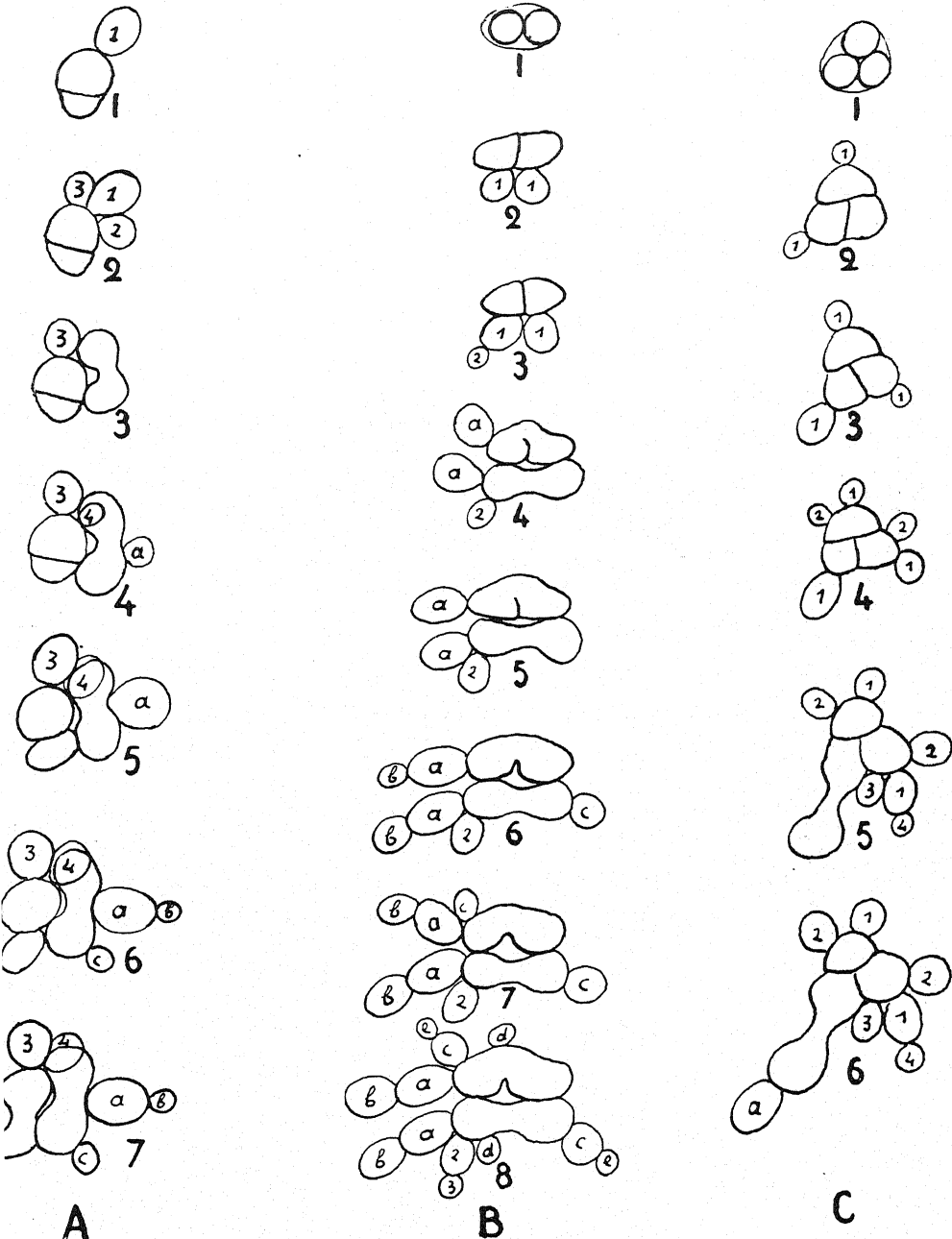
BOUAN del.

Neurospora sitophila Shear et Dodge.
Lignes de périthèces dans les cultures mixtes
de mycéliums de signes différents.



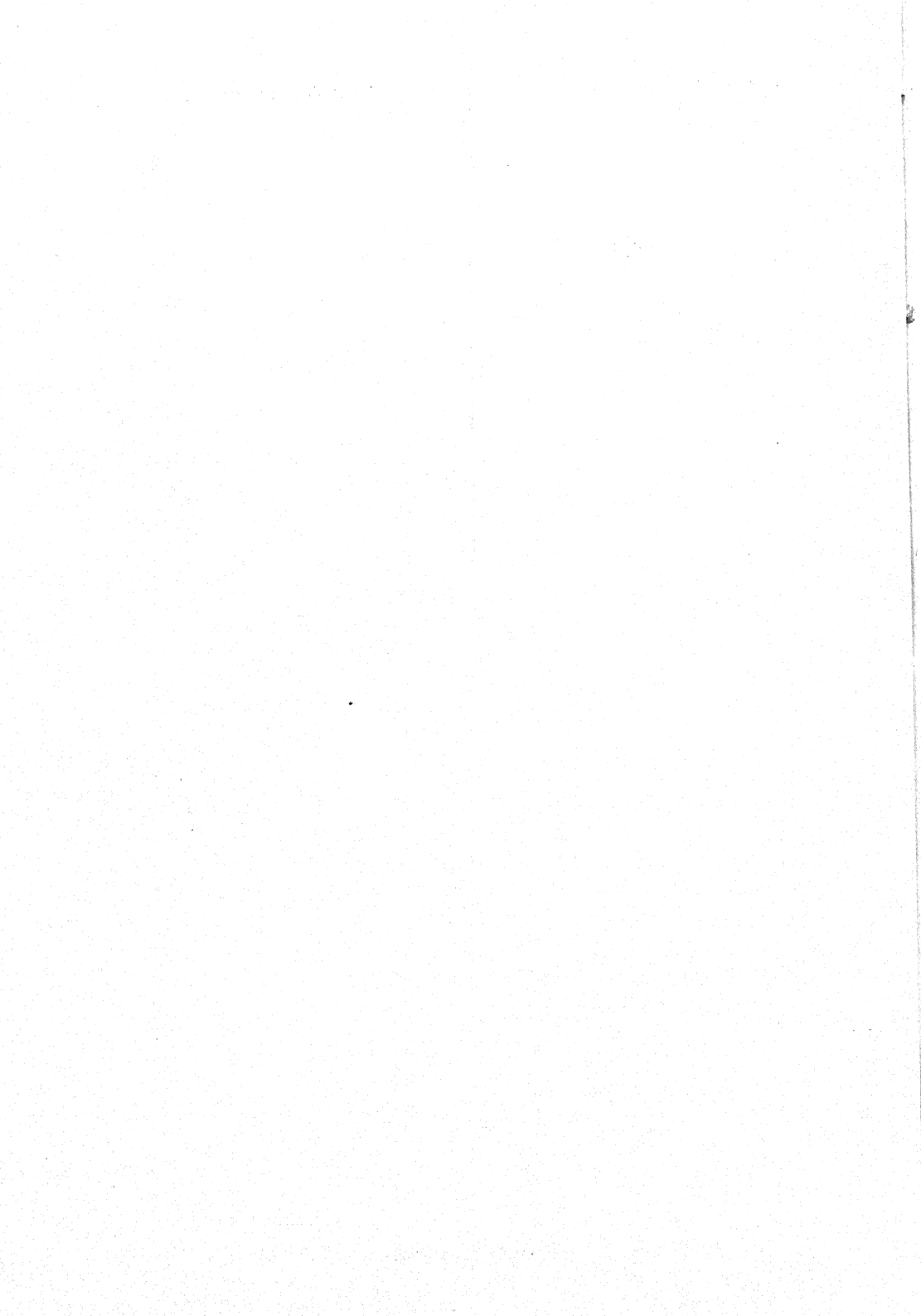
GUILLIERMOND, del.

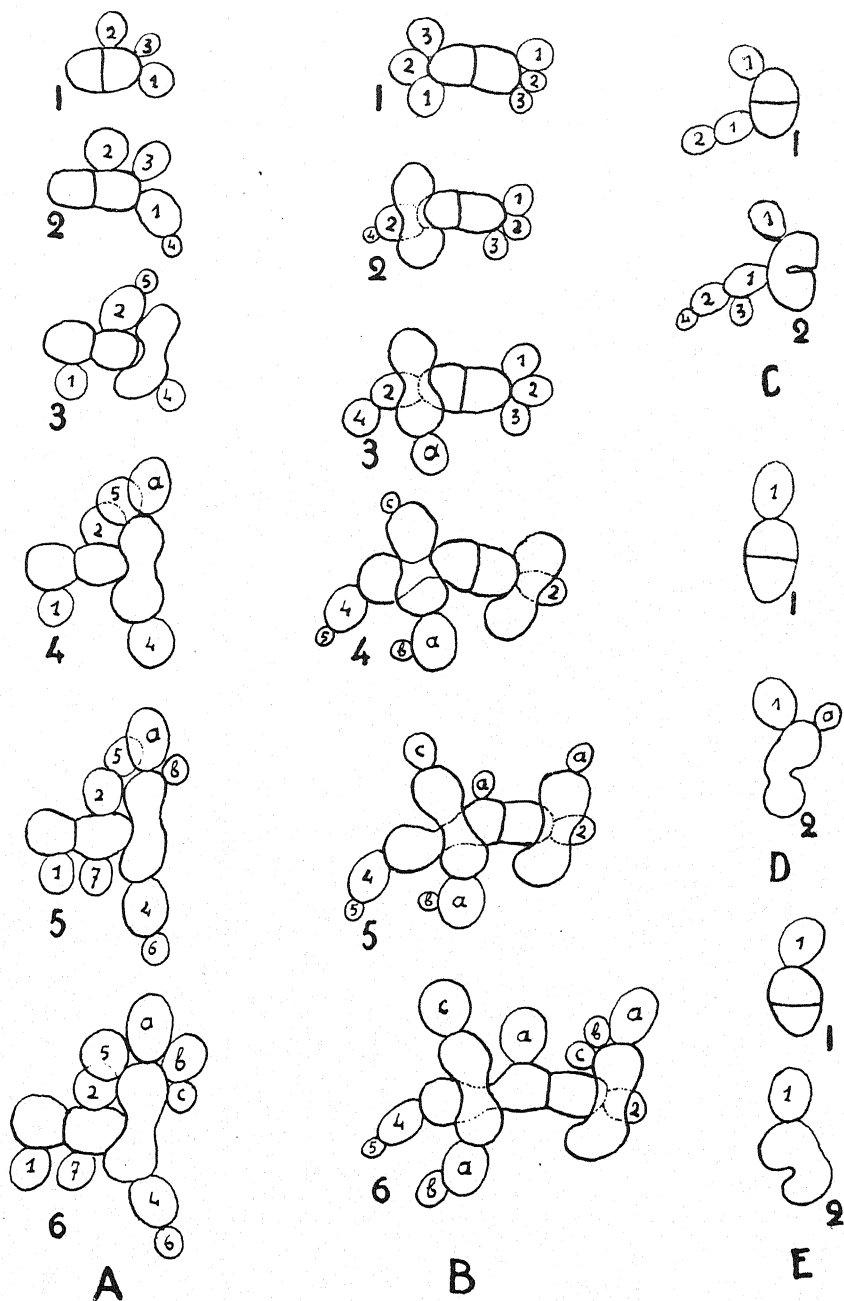
Saccharomyces paradoxus.



GUILLIERMOND, del.

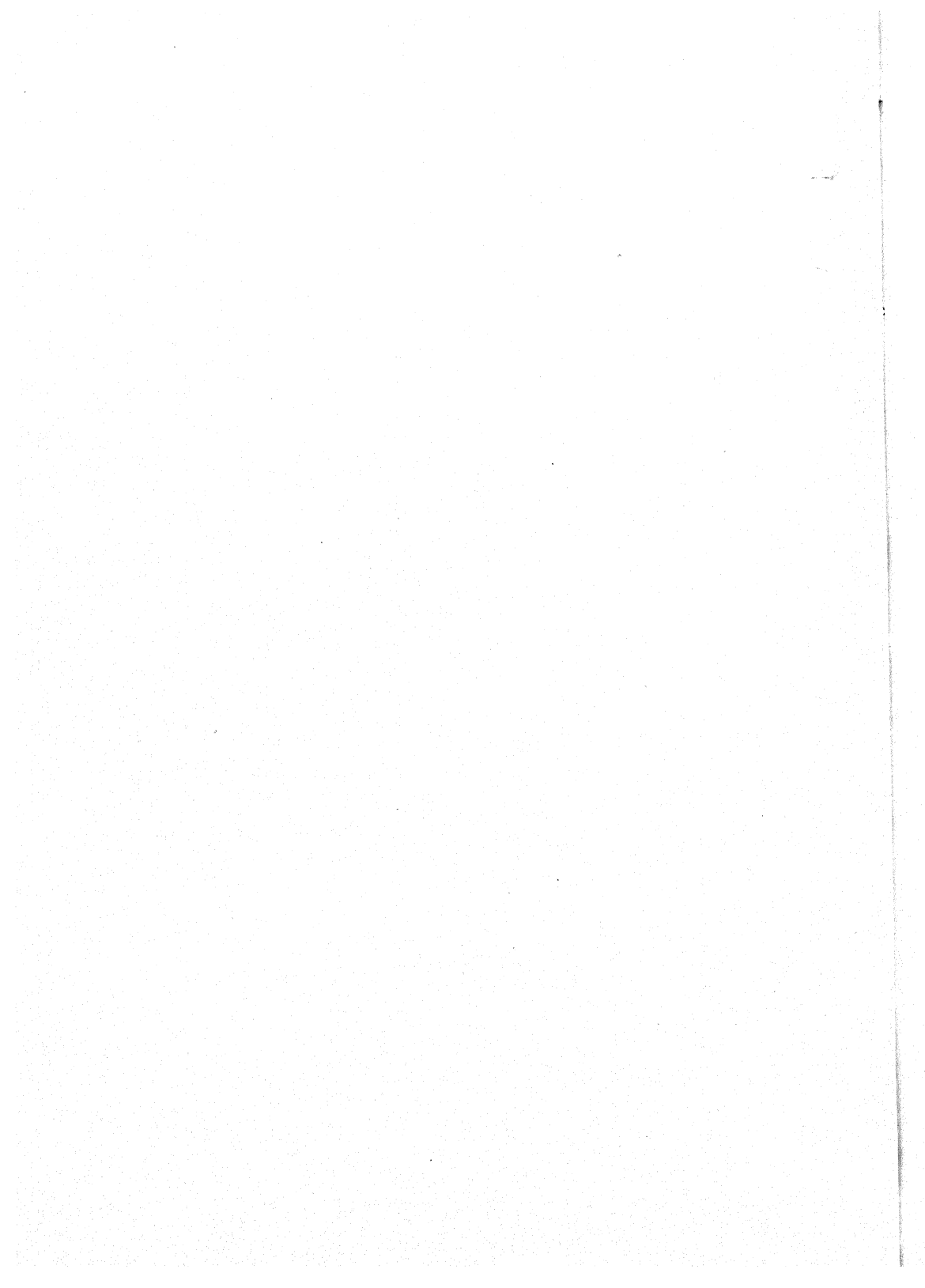
Saccharomyces paradoxus.

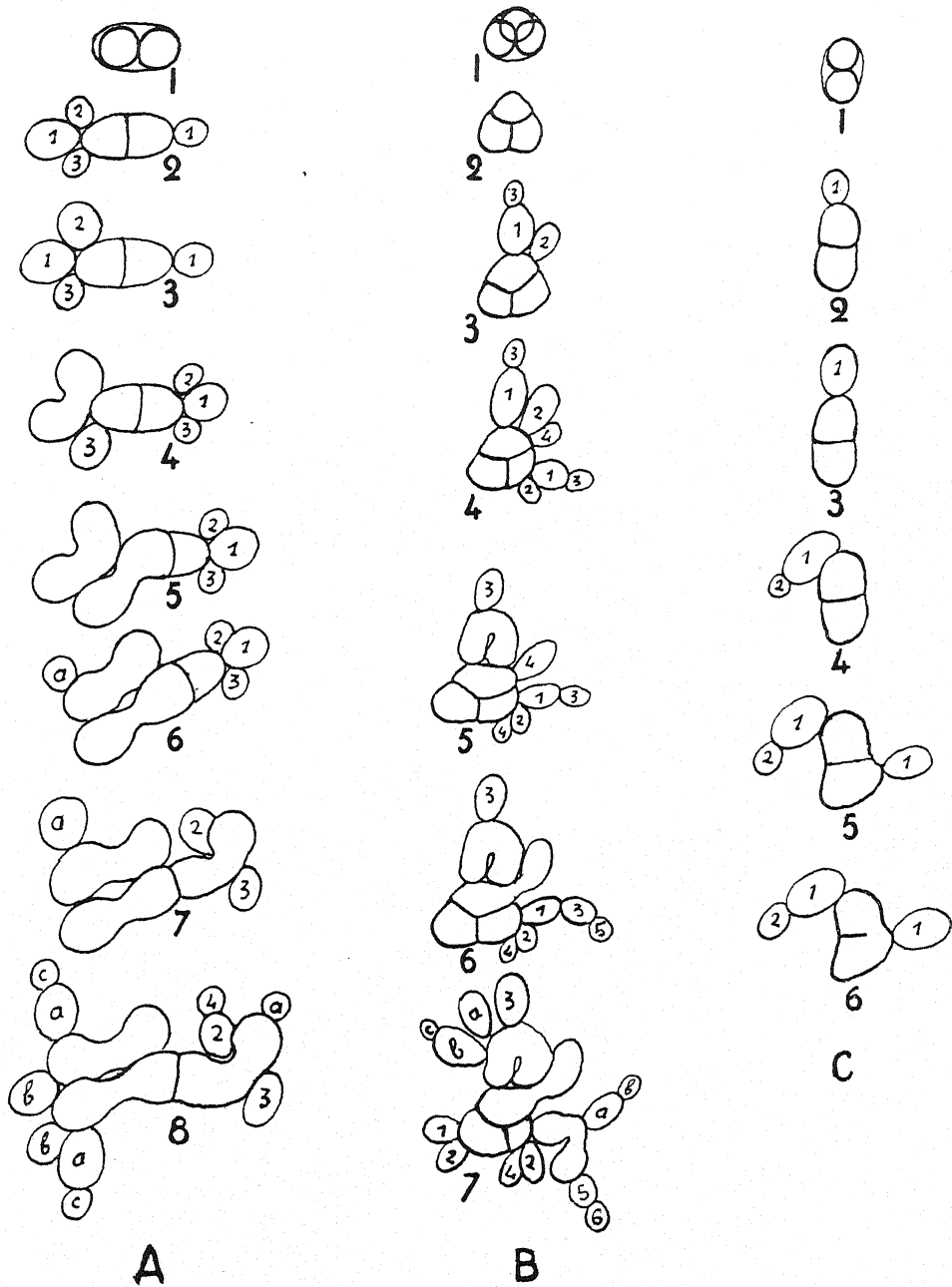




GUILLIERMOND, del.

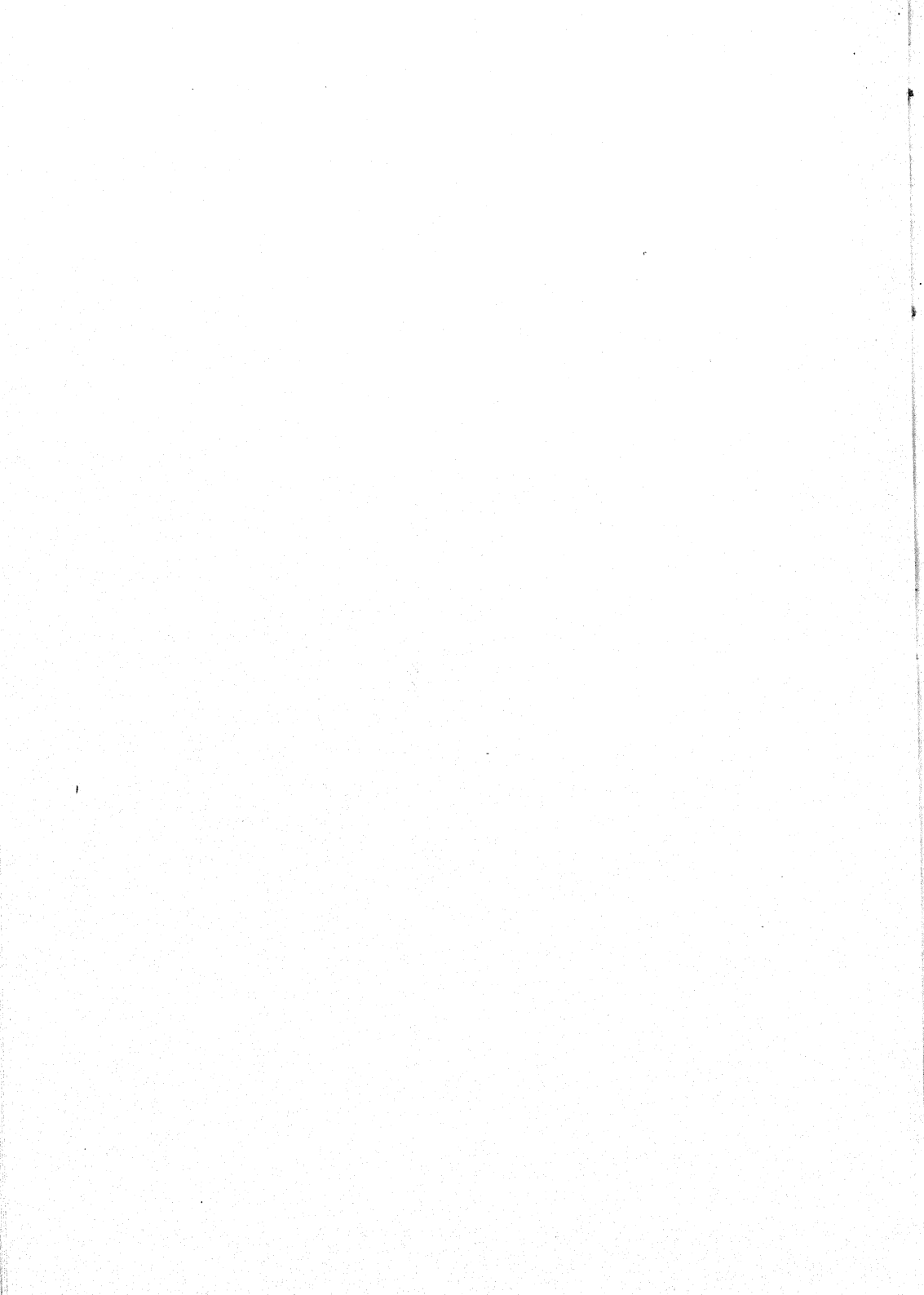
Saccharomyces paradoxus.

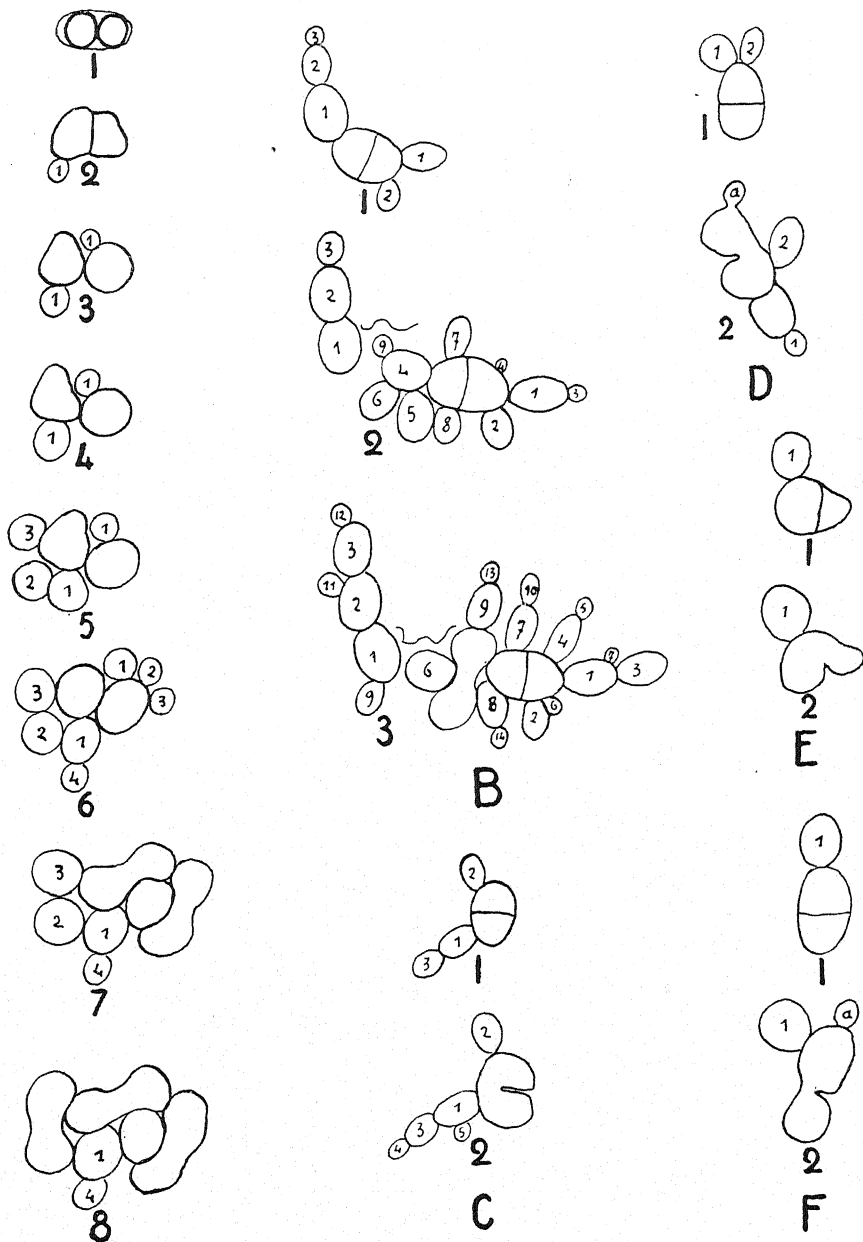




GUILLIERMOND, del.

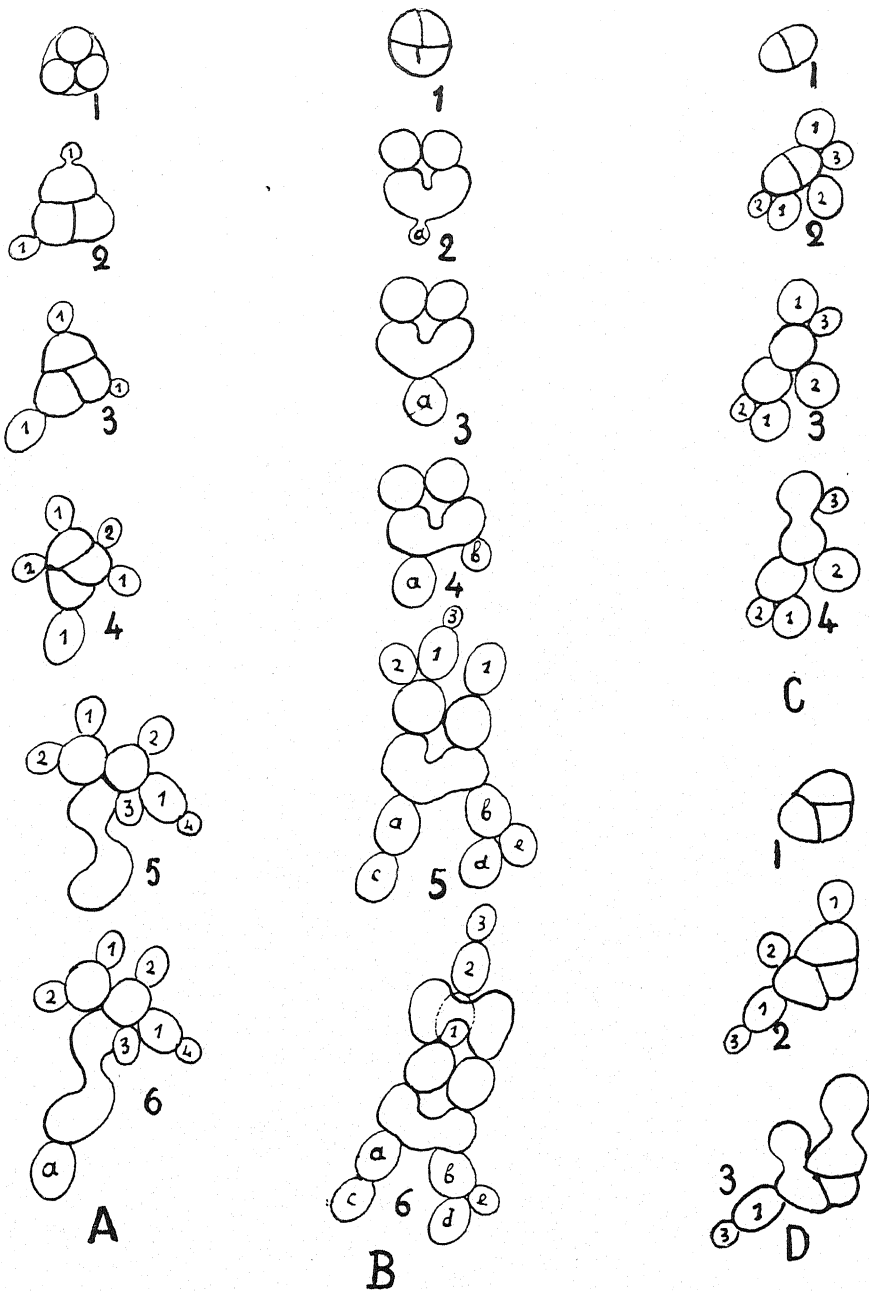
Saccharomyces paradoxus.





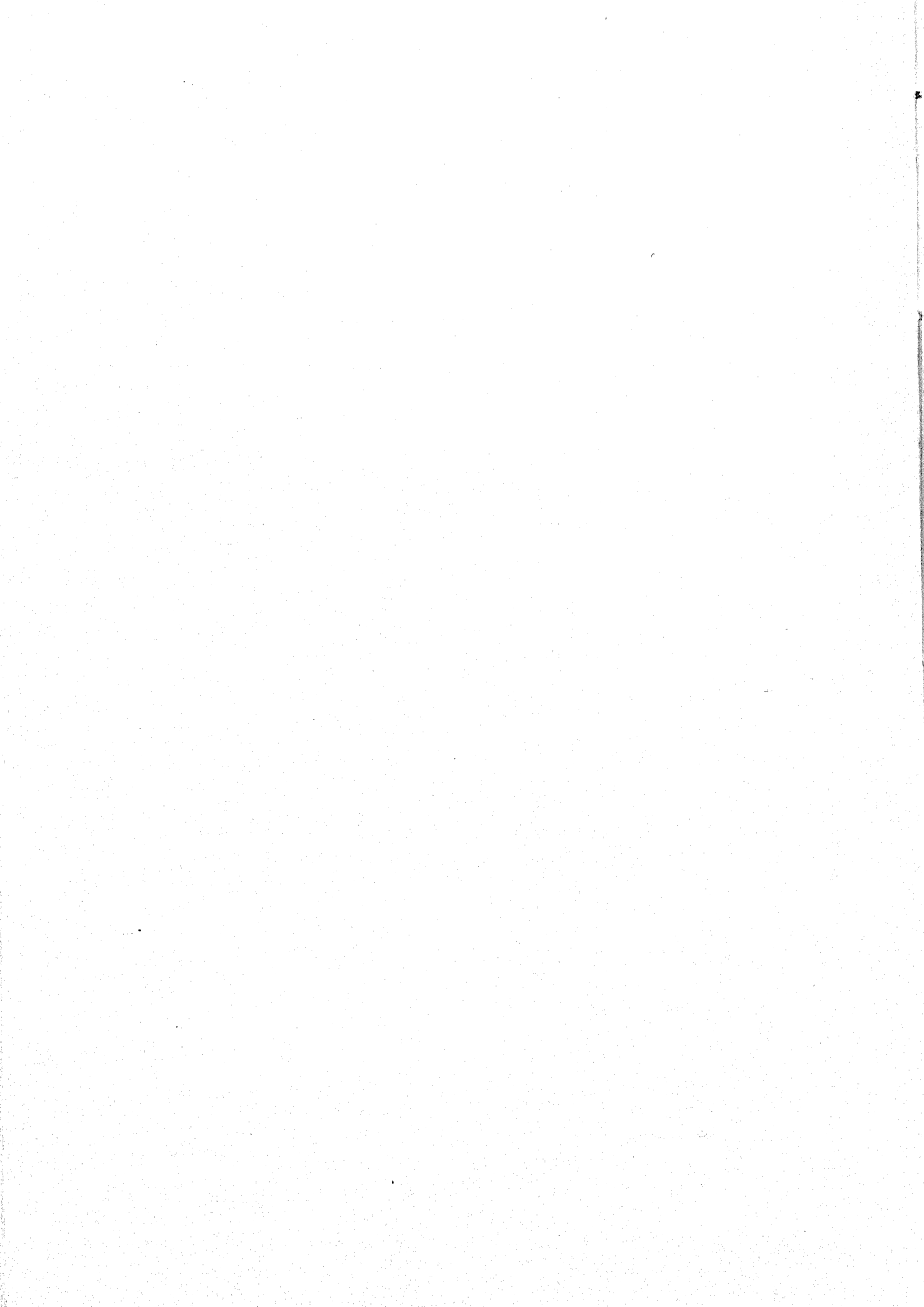
GUILLIERMOND, del.

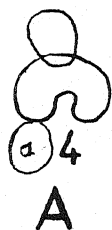




GUILLIERMOND, del.

Saccharomyces paradoxus.

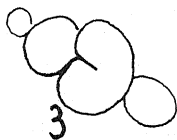




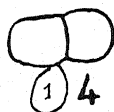
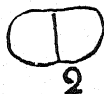
A



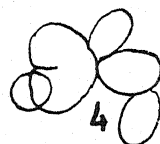
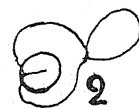
B



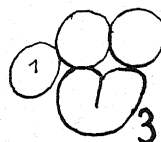
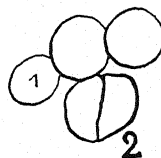
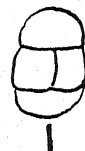
C



D



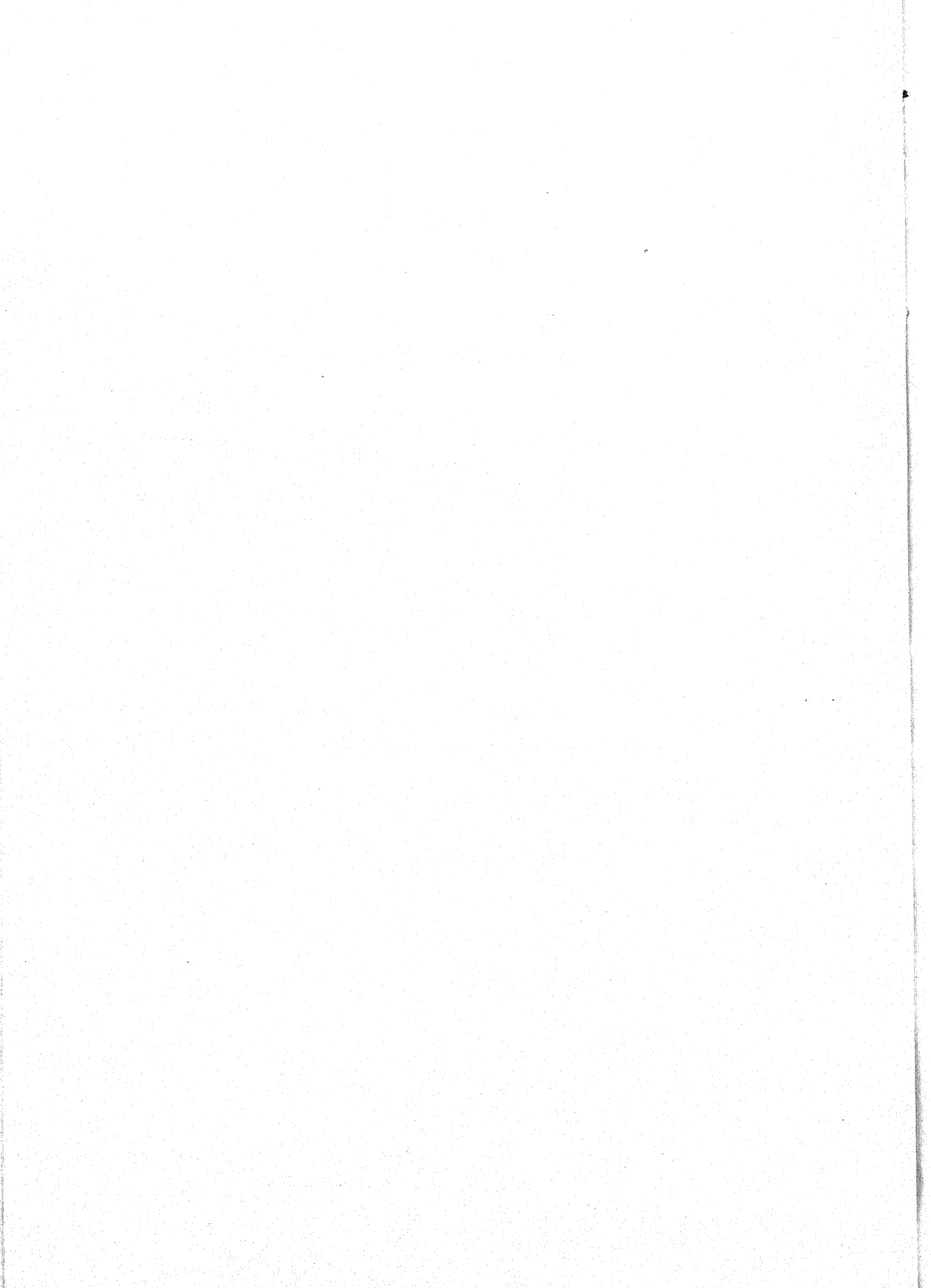
E

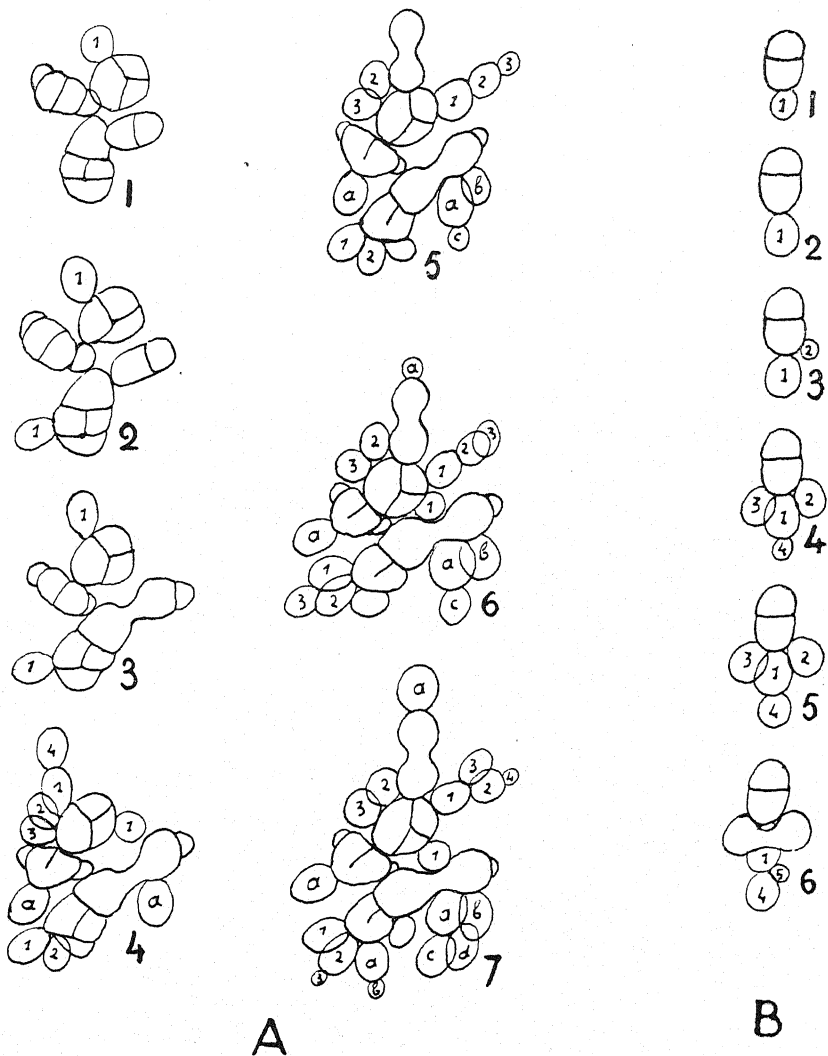


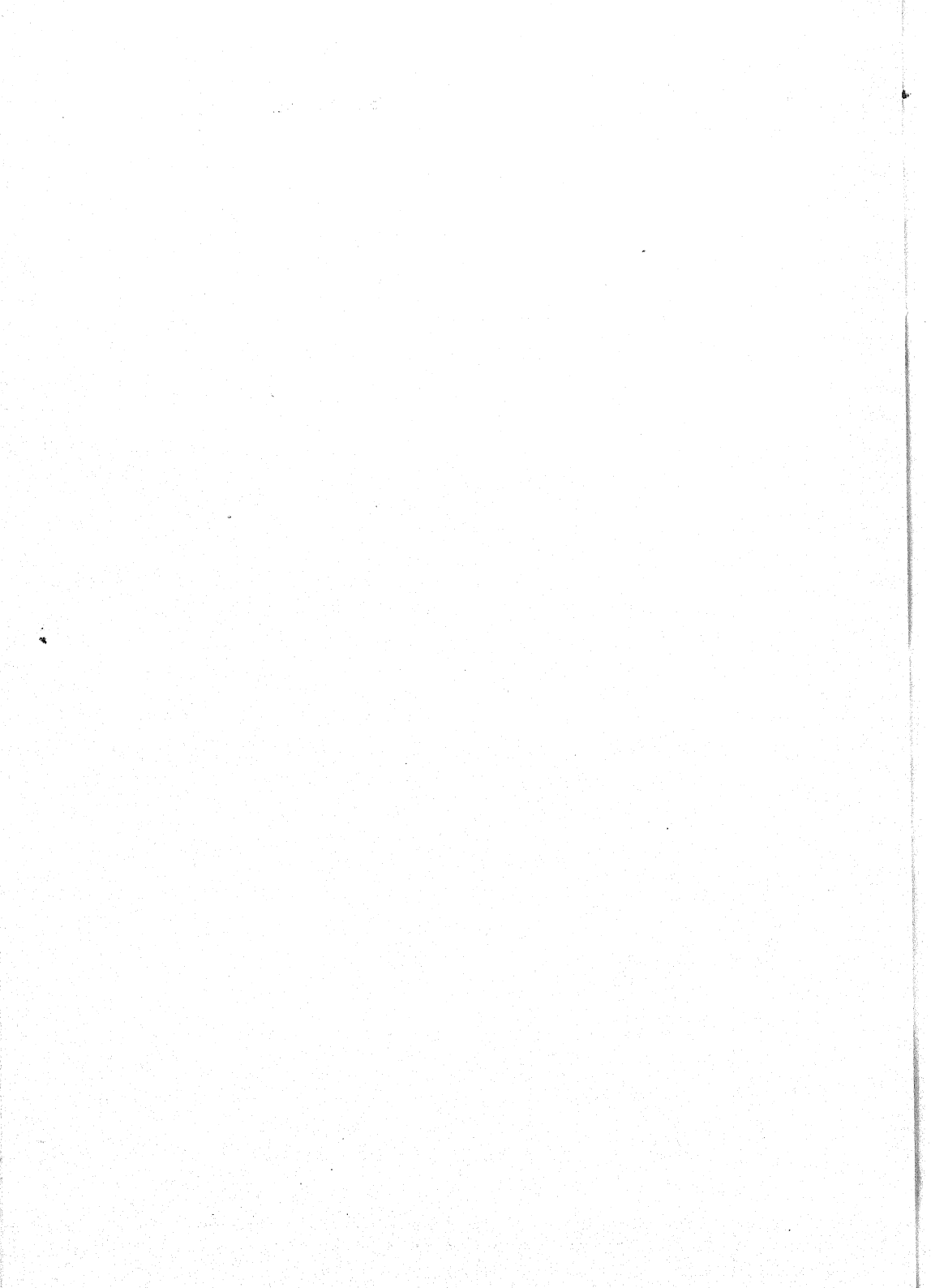
F

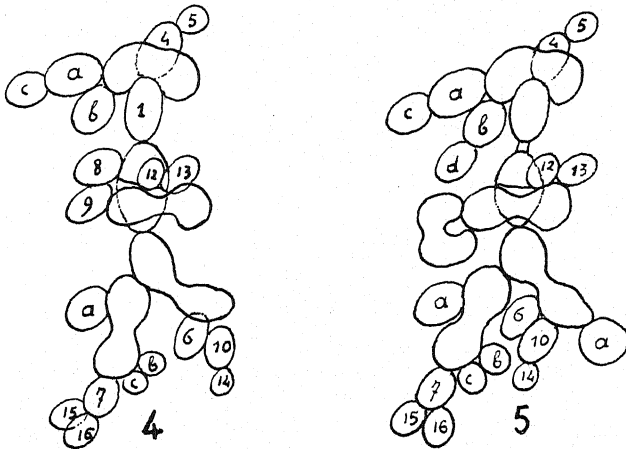
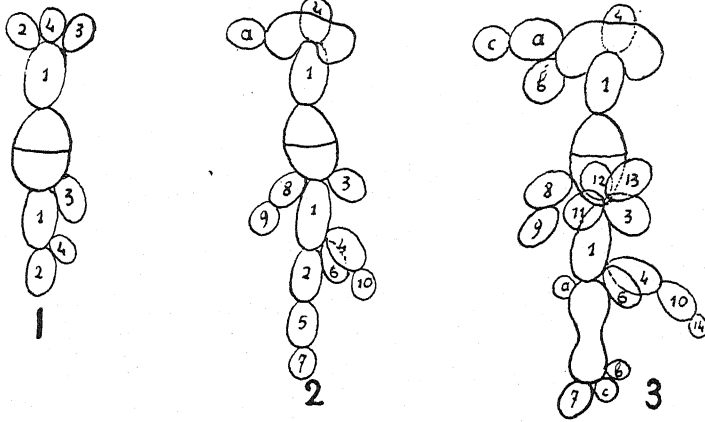
GUILLIERMOND, del.

Saccharomyces paradoxus.

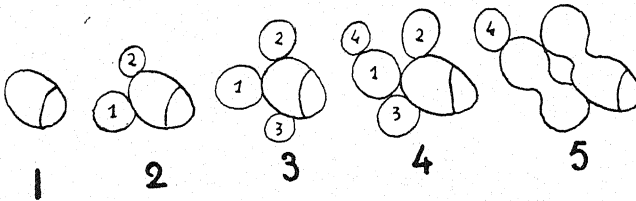








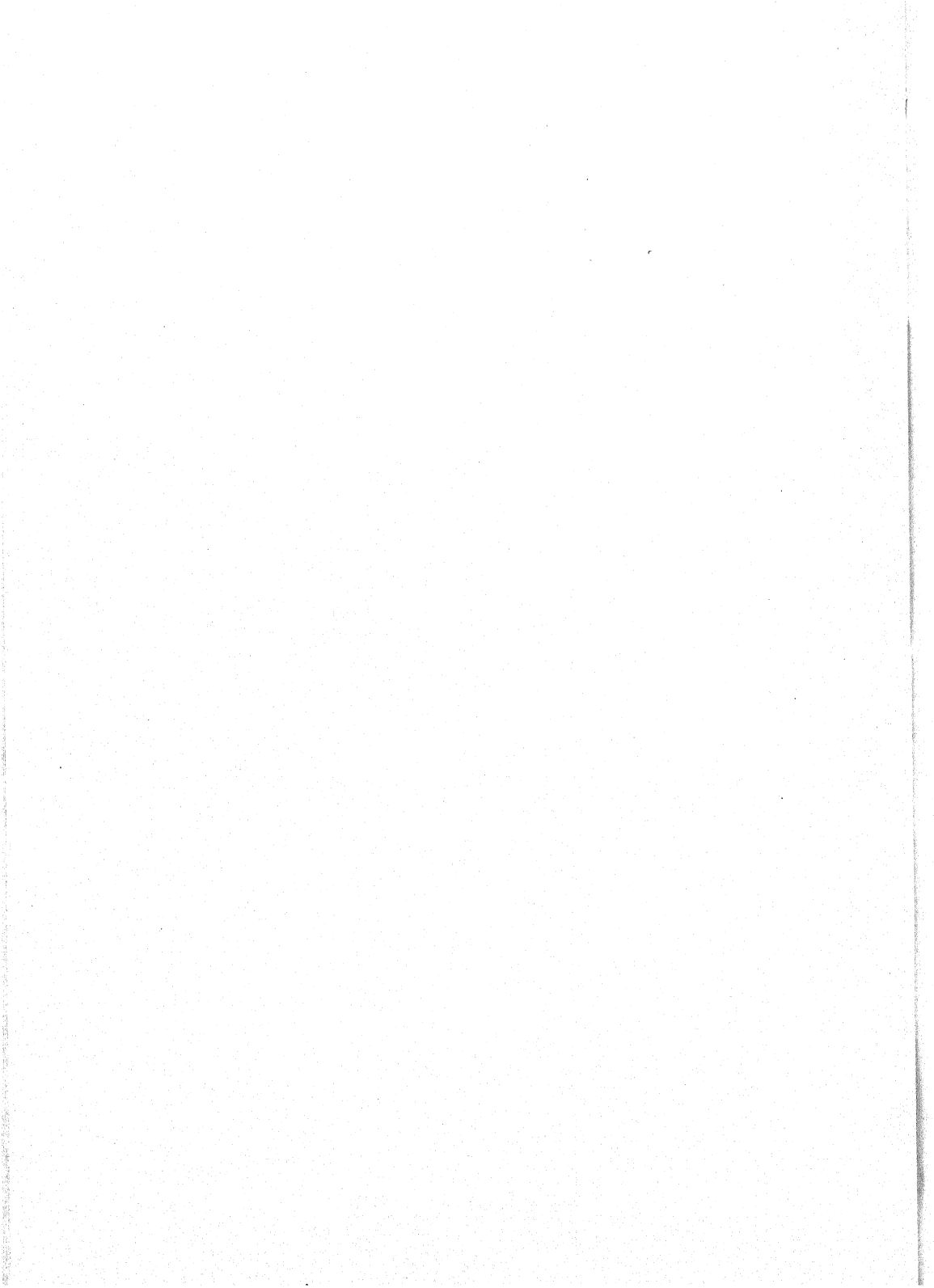
A



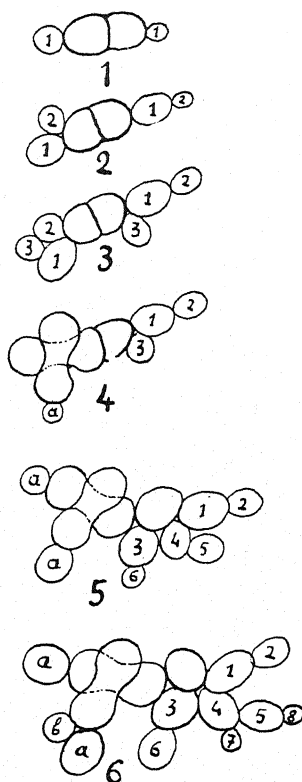
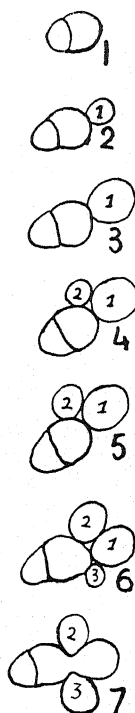
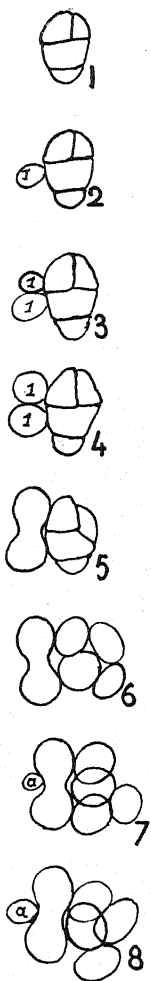
B

GUILIERMOND, del.

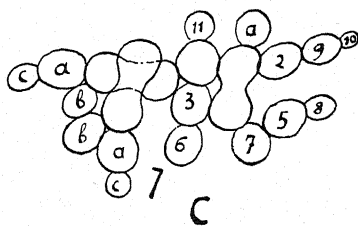
Saccharomyces paradoxus.



A

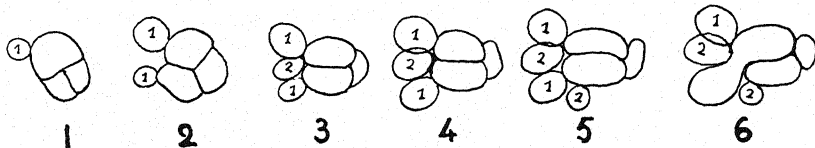


B



C

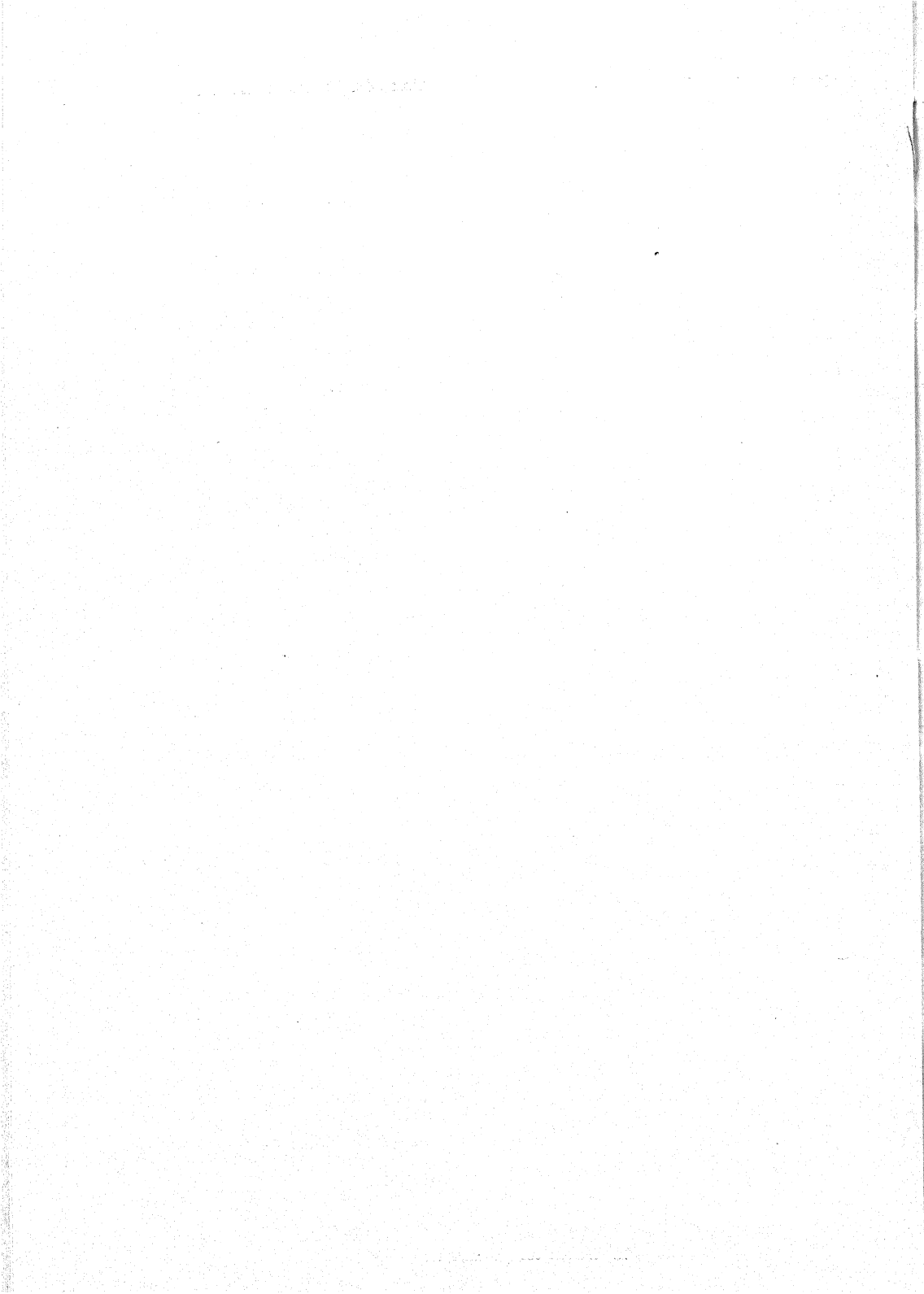
A

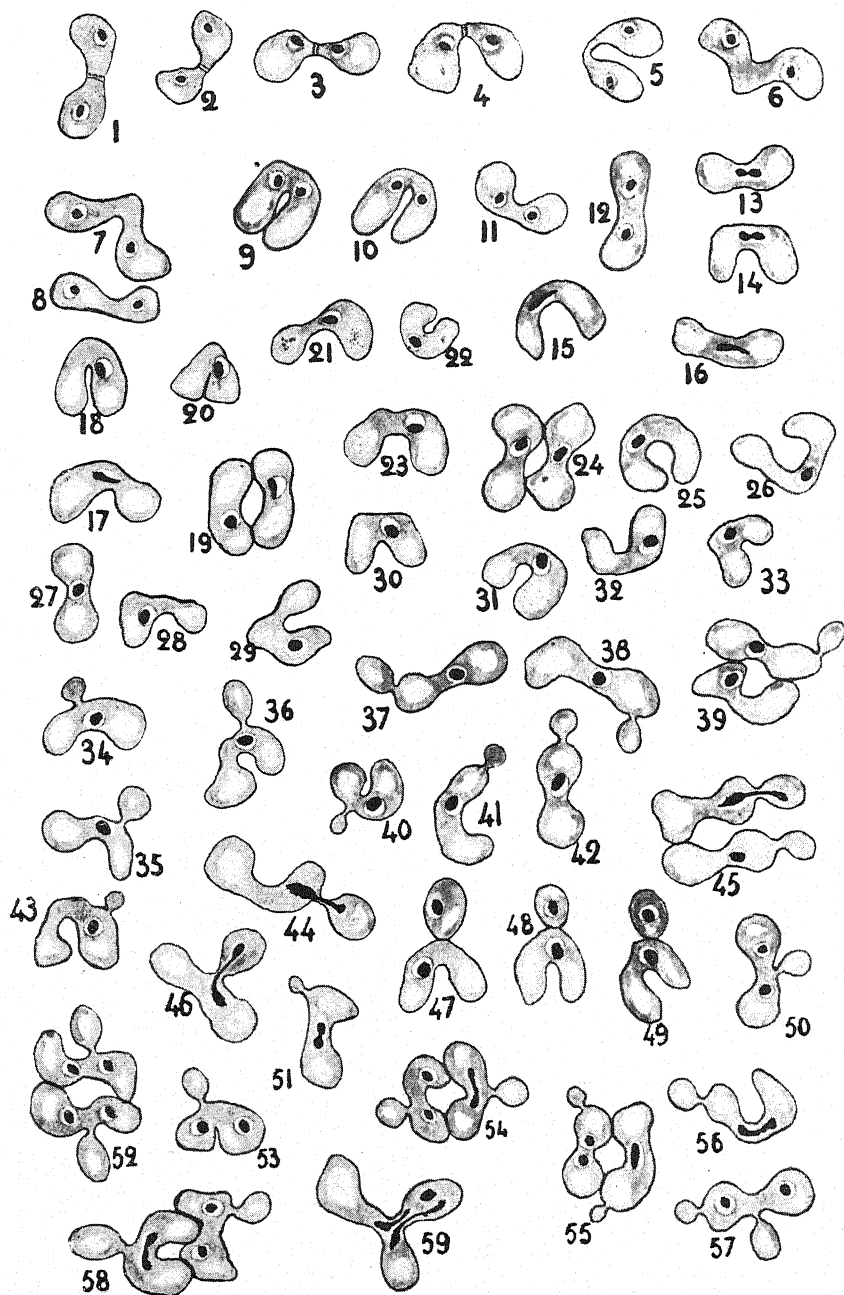


D

GUILLIERMOND, del.

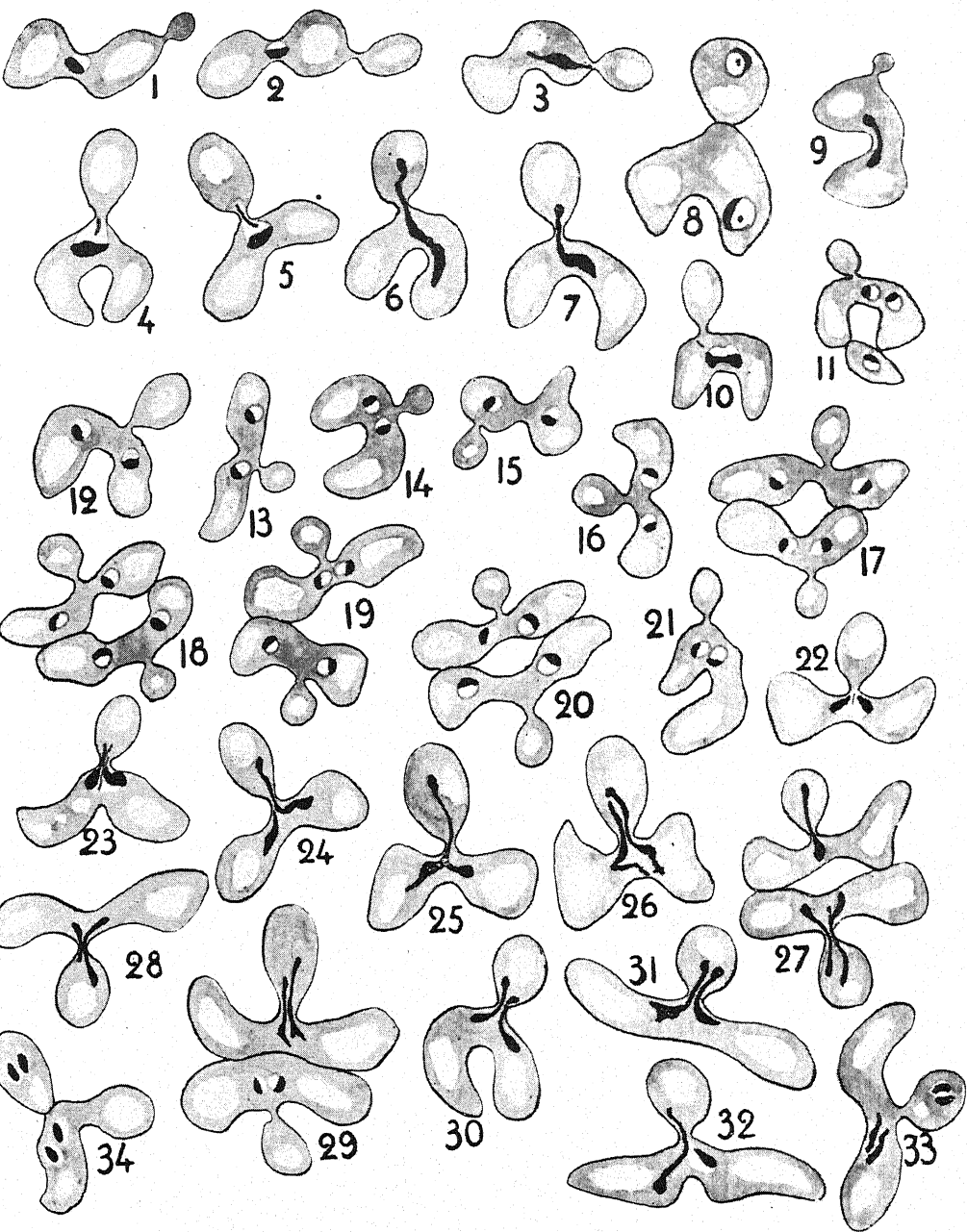
Saccharomyces paradoxus.





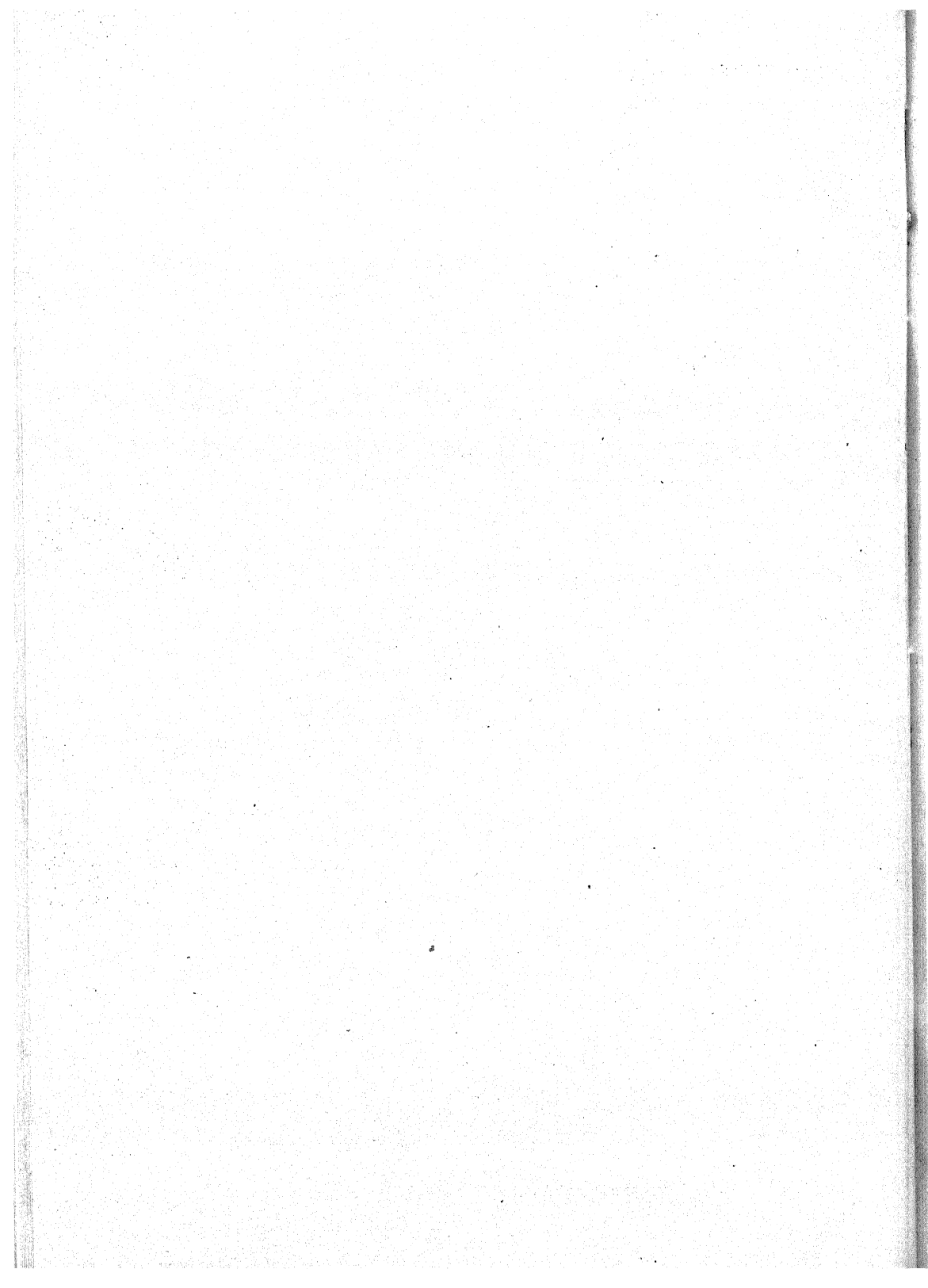
GUILLIERMOND, del.

Saccharomyces paradoxus.



GUILLIERMOND, del.

Saccharomyces cerevisia, race Iohannisberg II.



ÉTUDE D'UNE LEVURE
DU GENRE
ZYGOSACCHAROMYCES : Z. ASHBYII n. sp.

par Mlle M. CORDROC'H

I. INTRODUCTION

La Levure qui fait l'objet de ce travail a été trouvée par M. S.F. ASHBY, directeur de l'Institut Impérial Mycologique de Surrey (Angleterre). Ce savant l'a isolée des plantations de Sisal au Tanganyika Territory (Afrique orientale). Dans ces plantations, lorsqu'on a dépouillé les Agaves de leurs feuilles pour en extraire les fibres, il arrive parfois qu'il se produise une pourriture des souches : celle-ci peut, en se développant, gagner la tige et tuer la plante. M. S.F. ASHBY a prélevé en 1935 un échantillon d'une pourriture trouvée à la base d'une feuille de Sisal (*Agave rigida* var. *Sisalana*) et l'a expédié en Angleterre dans une boîte en fer blanc scellée. A son arrivée l'échantillon, déjà considérablement gâté, fut examiné et l'on ne put en isoler, excepté des Bactéries, aucun autre organisme qu'une Levure. Cependant, M. S.F. ASHBY ne pense pas que la Levure soit l'agent essentiel de la pourriture des souches de Sisal. Un examen rapide de cette levure lui a permis de constater qu'elle présente une grande analogie avec le *Zygosaccharomyces Marxianus* isolé par Marx, décrit par HANSEN sous le nom de *Saccharomyces Marxianus*, puis rangé par GUILLIERMOND et NEGRONI, à la suite de la découverte de sa sexualité, dans le genre *Zygosaccharomyces*, sous le nom de *Z. Marxianus*. Dans le but de la faire déterminer, M. S.F. ASHBY a envoyé une culture de cette Levure à M. GUILLIERMOND qui nous en a confié l'étude.

Qu'il nous soit permis d'exprimer ici à M. GUILLIERMOND, membre de l'Institut, professeur à la Sorbonne, notre profonde gratitude pour la bienveillance avec laquelle il nous a accueilli dans son Laboratoire et nos plus vifs remerciements pour les conseils éclairés qu'il n'a cessé de nous prodiguer tout au long de notre travail.

Nous tenons également à remercier M. S.F. ASHBY, directeur de l'Institut Impérial Mycologique de Surrey qui a bien voulu nous fournir lui-même les renseignements relatifs à l'origine de cette Levure.

II. ÉTUDE DE LA LEVURE

1) Caractères macroscopiques de la végétation sur moût de bière.

La Levure ensemencée sur moût de bière liquide et placée à l'étuve à 25° provoque, au bout de quelques heures, un début de fermentation qui trouble le liquide; celle-ci terminée, le liquide redevient clair; on a alors, au fond du tube, un dépôt de couleur blanc grisâtre, sans qu'il y ait trace d'anneau ni de voile.

Au bout de 45 jours, le dépôt a pris une teinte brunâtre; il n'y a toujours pas de voile, mais une mince ligne blanchâtre marque sur le tube le niveau d'affleurement du liquide, en formant un anneau très mince.

2) Forme et dimensions des cellules.

La forme et les dimensions des Levures ne constituent qu'un caractère relatif, car bien peu d'espèces ont une forme caractéristique. De plus, on constate toujours, pour une même espèce, de grandes différences de forme et de dimensions qui oscillent cependant entre certaines limites propres à chacune d'elles. En outre, la forme et les dimensions des cellules étant susceptibles de varier suivant le milieu, l'âge de la culture et la température, il est nécessaire, pour l'étude de ces caractères, de se placer pour toutes les Levures dans des conditions identiques. HANSEN [4] a proposé de décrire les cellu-

les formées sur moût de bière liquide à 25° au bout de 24 heures, puis celles qui constituent le voile ou l'anneau. Mme STELLING-DEKKER [9], dans sa récente Monographie des Levures, a adopté cette méthode, mais l'a complétée par la description des cellules sur moût de bière gélosé après 72 heures. Nous avons procédé de cette manière.

a) *Moût de bière liquide* (fig. 1).

Au bout de 24 heures à 25°, la Levure se présente dans le dépôt sous forme de cellules ovales et de cellules rondes dont voici les dimensions :

cellules ovales : 1,5 à 4,5 μ sur 5 à 10 μ

cellules rondes : diamètre moyen : 3,5 μ

On trouve aussi quelques levures assemblées en chapelets bourgeonnants et de très rares rudiments mycéliens peu développés. Après 45 jours à 25°, l'examen des cellules du dépôt montre :

des cellules ovales : 1,5 à 2,5 μ sur 4,5 à 9 μ

des cellules rondes : diamètre 1,5 à 2,5 μ

Les cellules plus récentes sont moins grandes que les cellules formées au début de la culture. Il semble donc qu'elles deviennent de plus en plus petites à mesure que l'aliment diminue. C'est du reste ce que l'on observe dans la plupart des Levures [2]. On ne voit pas de formes mycéliennes, par contre il y a quelques ascospores libres.

L'examen microscopique de la trace d'anneau montre uniquement des cellules rondes de diamètre variant entre 1,75 et 4,5 μ .

b) *Moût de bière gélosé* (fig. 2).

Au bout de 3 jours à 25°, les cellules sont ovales ou plus allongées, généralement séparées et mesurent :

(1,5 à 3,5) μ sur (3 à 9) μ .

On ne voit pas de formes mycéliennes. Sur des cultures de 8 jours ou plus nous avons trouvé cependant quelques rudiments mycéliens peu développés.

c) *Formes mycéliennes* (fig. 3).

La levure a une tendance à produire des rudiments mycéliens sur certains milieux solides : il ne s'en forme pas, en général, sur moût de bière liquide, sur carotte, très peu sur moût de bière gélosé,

mais dans les cultures sur gélose de Gorodkowa datant d'au moins un mois, nous avons pu trouver des rudiments mycéliens très développés formés de longs filaments ramifiés. Ces formations s'observent aussi dans les colonies géantes sur moût gélatiné, mais elles sont un peu moins développées que sur gélose de Gorodkowa.

3) Températures maxima et optima de bourgeonnement.

a) *Température maxima.*

Dans cette recherche, nous ensemencions une trace macroscopique de Levures, donc visible avant bourgeonnement, sur la surface du moût gélosé. (Une trace microscopique se dessècherait au voisinage de la température maxima). Cette trace se développait de façon très appréciable jusqu'au voisinage de 47°. La température maxima se place donc entre 47 et 48°.

L'examen des colonies poussées aux températures voisines de la température maxima, c'est-à-dire vers 43-45°, nous a montré des cellules paraissant plus allongées, quelques-unes nettement plus grosses et ovoïdes, mais aucune formation mycélienne.

b) *Température optima.*

Pour déterminer la température optima, nous avons employé la technique suivante : nous ensemencions une trace microscopique sur moût gélosé dans une boîte de Pétri et nous mesurons, au bout de 1, 2, 3, 4 et 5 jours, le diamètre de la colonie.

Cette méthode nous a permis de constater que la température optima de bourgeonnement est située entre 28 et 30°.

4) Etude de la sporulation.

a) *Formation des spores (fig. 4).*

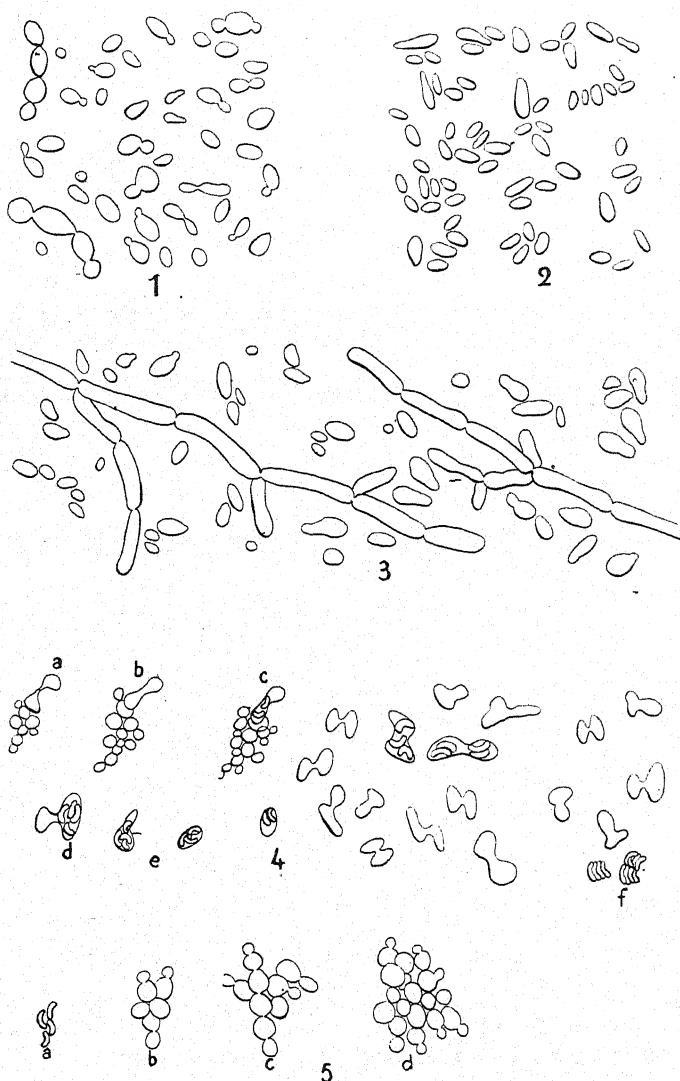
La Levure sporule sur la plupart des milieux solides (moût gélosé, bouillon de carotte et de pomme de terre gélosé, gélose de Gorodkowa, tranche de carotte), mais la sporulation n'est abondante que sur tranche de carotte et sur bouillon de carotte et de pomme de terre. C'est donc ces deux derniers milieux que nous avons utilisés pour cette étude.

Sur tranche de carotte, la formation des asques commence au bout de 2 jours environ à 25° et se poursuit ensuite pendant 2 ou 3 jours. Elle est généralement précédée d'une conjugaison : le plus souvent, celle-ci s'effectue entre deux cellules de mêmes dimensions, c'est-à-dire par isogamie (fig. 4). Les deux gamètes s'unissent au moyen d'un petit bec formé par chacun d'eux ; les becs se soudent, et la cloison qui les sépare à leur point de contact se résorbe. Il se produit ainsi une zygospore constituée par deux renflements unis par un canal. La zygospore se transforme aussitôt en asque renfermant de 2 à 4 ascospores (fig. 4, *a, b, c*). Assez fréquemment, cependant, la conjugaison montre une tendance à l'hétérogamie (fig. 4, *d*) : elle s'opère entre une grosse cellule jouant le rôle de gamète femelle et une petite cellule correspondant au gamète mâle. Cependant, même dans ce cas, les ascospores naissent aussi bien dans le renflement le plus gros que dans le plus petit. Ce n'est que dans des cas relativement rares que le gamète mâle se vide en envoyant tout son contenu dans le gamète femelle où se forment les ascospores (fig. 4, *d*). Notre Levure présente donc tous les intermédiaires entre l'iso- et l'hétérogamie, mais l'isogamie est de beaucoup la plus fréquente.

On constate quelquefois des cas de parthénogénèse : les asques prennent naissance dans des cellules ordinaires n'ayant pas subi de conjugaison préalable (fig. 4, *e*). Parfois les asques parthénogénétiques sont munis d'un bec latéral qui montre que les cellules dont ils dérivent ont fait préalablement des tentatives de conjugaison (fig. 4, *e*).

Il est très facile de trouver des cellules en voie de conjugaison et des zygospores non encore transformées en asques ; par contre, il est plus difficile d'observer les asques : le plus souvent, les ascospores apparaissent libres dans la culture. C'est que, contrairement à ce que l'on observe dans la plupart des Levures, l'asque gélifie sa paroi presque immédiatement après la formation des ascospores.

Nous avons précisé ces observations, en suivant sous le microscope la conjugaison et la formation des asques en chambre humide de VAN TIEGHEM et de LE MONNIER sur gouttelettes pendantes de bouillon de carotte et de pomme de terre gélosé. C'est au bout de 2 jours environ que la conjugaison commence. La Levure apparaît sous la forme de petites colonies constituées par de nombreuses



Levure de Sisal.

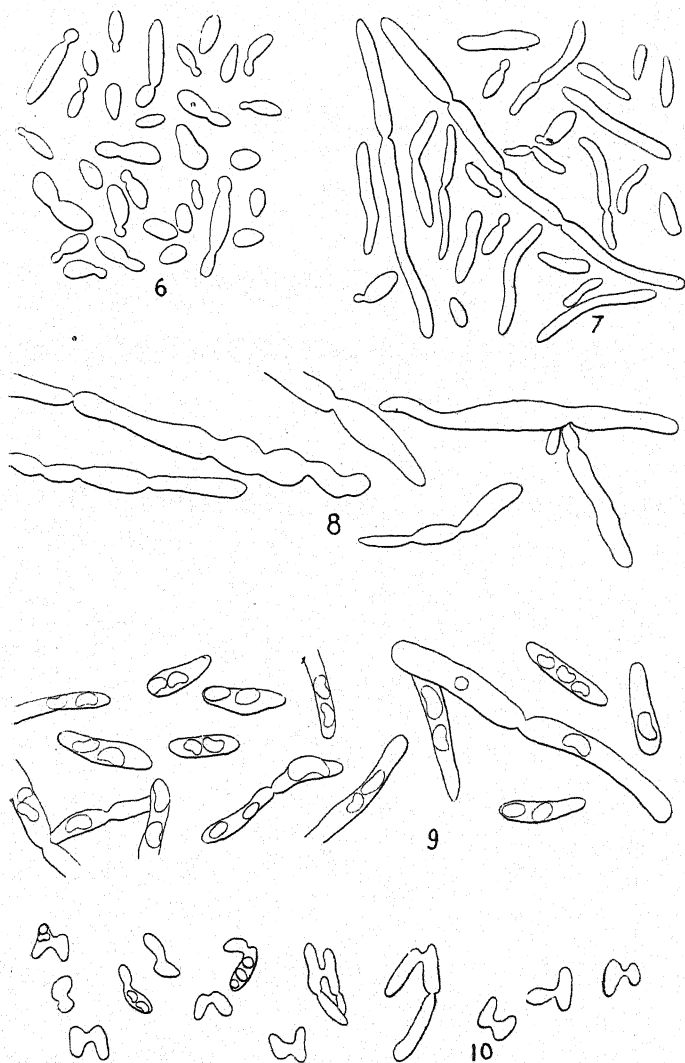
Fig. 1. — Cellules sur moût de bière liquide après 24 heures à 25°.

Fig. 2. — Cellules sur moût de bière gélifié après 72 heures à 25°.

Fig. 3. — Formes mycéliennes obtenues sur gélose de Gorodkova après 30 jours.

Fig. 4. — *a, b, c* : conjugaison isogamique et formation des ascospores (*a* : 24 mars, 19 h.; *b* : 25 mars, 10 h.; *c* : 19 h.); *d* : conjugaison hétérogamique; *e* : asques parthénogénétiques; *f* : spores libres en petits groupes.

Fig. 5. — *a, b, c, d* : germination d'ascospores (*a* : 23 avril, 19 h.; *b* : 24 avril 9 h.; *c* : 18 h.; *d* : 25 avril, 18 h.).



Zygosaccharomyces Marxianus.

Fig. 6. — Cellules sur moût de bière liquide après 24 heures à 25°.

Fig. 7. — Cellules sur moût de bière gélifié après 72 heures à 25°.

Fig. 8. — Formes mycéliennes provenant de l'anneau sur moût liquide.

Fig. 9. — Asques parthénogénétiques.

Fig. 10. — Conjugaisons iso- et hétérogamiques.

cellules ovales ou rondes groupées ensemble et en voie de bourgeonnement. Certaines de ces cellules se conjuguent et forment des ascospores. L'asque une fois formé gélifie rapidement sa membrane et les ascospores mises en liberté restent réunies par petits groupes (fig.4,f).

b) *Forme et dimensions des ascospores.*

Les asques renferment, comme nous l'avons dit, de 2 à 4 ascospores, mais le plus souvent celles-ci sont au nombre de 4. Les ascospores ont une paroi lisse et une forme tout à fait caractéristique : elles sont toujours plus ou moins nettement réniformes ; généralement, elles sont étroites et allongées, fortement incurvées, ressemblant à des bananes, cependant quelques-unes moins incurvées paraissent ovales. Elles ressemblent donc beaucoup aux ascospores du *Z. Marxianus* ; elles se rapprochent aussi, dans une certaine mesure, des ascospores de *Guilliermondella selenospora* décrites par NADSON et KRASSILNIKOV [7]. Généralement, elles s'entrecroisent dans l'asque. Elles mesurent de 1 à 1,5 μ de largeur sur 3 à 6 μ de longueur. Une fois parvenues à maturité, elles sont, comme on l'a vu, immédiatement libérées par gélification des parois de l'asque et restent réunies par petits groupes de 2 à 4 : parfois même, les ascospores provenant de la déhiscence d'asques placés au voisinage les uns des autres s'agglomèrent en masses formées par un grand nombre d'ascospores. Ces ascospores très petites et très réfringentes donnent l'illusion d'un organisme étranger à la Levure.

c) *Germination des ascospores* (fig. 5, a, b, c, d).

Nous avons suivi la germination des ascospores sous le microscope en chambre humide de VAN TIEGHEM et LE MONNIER. Celle-ci ne présente rien de particulier : les ascospores se gonflent et prennent la forme et les dimensions des cellules ordinaires puis bourgeonnent en produisant rapidement de nombreuses cellules de Levures.

5) *Températures maxima et optima pour la sporulation.*

Pour déterminer ces températures, on part d'une même souche de Levure, rajeunie par un passage de 24 à 48 heures dans le moût de bière, que l'on transporte sur des blocs de plâtre humides déposés dans des cristallisoirs fermés et qui sont placés dans des étuves à

diverses températures. En prélevant chaque jour une trace des Levures placées sur ces blocs de plâtre, on note le temps que met la Levure à former ses premiers asques. La température à laquelle les asques apparaissent le plus vite correspond à la température optima. Par le même procédé on peut déterminer la température au-delà de laquelle la sporulation cesse de se produire. On voit que, d'une manière générale, la température limite pour la sporulation est située au-dessous de la température limite pour le bourgeonnement; autrement dit, la sporulation cesse à une température encore compatible avec le bourgeonnement.

Ayant constaté que notre Levure sporulait plus facilement sur tranche de carotte que sur bloc de plâtre (technique habituelle), c'est ce milieu que nous avons utilisé pour les déterminations des températures maxima et optima pour la sporulation. Nous avons examiné chaque jour les cultures placées à diverses températures et nous avons pu constater, par ce moyen, que la température maxima pour la sporulation paraissait être située vers 45° et la température optima entre 25 et 27°.

6) Aspect macroscopique des cultures sur milieux solides.

a) *Cultures en strie.*

Sur moût de bière gélosé, on obtient, au bout de 8 jours à 20° environ, une culture de 0,5 cm. de large, peu brillante, très finement plissée, de couleur blanc grisâtre, à bords largement ondulés, formant des découpures peu profondes.

Sur moût de bière gélatiné (120 grammes de gélatine par litre), au bout de 8 jours à 20°, on obtient une culture brillante, d'aspect humide, peu ornementée, à peine plissée, de couleur gris jaunâtre, à bords largement découpés.

b) *Colonies géantes.*

Les colonies géantes ont été décrites et photographiées au bout de 30 jours à 20°.

Sur moût gélosé, la colonie (pl. XXX, fig. du haut). est à peu près circulaire, a un diamètre de 5 cm., une couleur blanc grisâtre, et une épaisseur uniforme. Du centre partent quelques plis saillants qui divergent en éventails vers le bord, formant des

lobes à la périphérie. Le centre et quelques plis ont une teinte légèrement brune qui tranche sur le fond grisâtre de la colonie.

Sur moût de bière gélatiné, la colonie circulaire, blanc jaunâtre, a un diamètre de 1 cm. 2, une épaisseur à peu près uniforme, à peine supérieure au centre; ses bords sont légèrement striés. Une tache centrale, de couleur brun rouge, occupe la moitié environ de la surface de la colonie.

Cette couleur a déjà été observée dans l'étude de l'optimum de bourgeonnement faite sur moût gélosé en boîte de Pétri. Elle semble se produire plus facilement à 25° et au-dessus de cette température. Comme une semblable coloration a été décrite par NADSON et KONOKOTINE [6] dans *Nadsonia* (*Guilliermondia*) *fulvescens* où elle est en relation avec les asques et ne se produit que dans les régions où ceux-ci sont formés, nous nous sommes demandé s'il n'en était pas de même pour notre Levure. Mais il est facile de se rendre compte que cette coloration apparaît dans des régions dépourvues d'asques : elle est due à un pigment dont la localisation n'est pas décelable car il n'est pas visible microscopiquement. Ce pigment ne paraît pas être un carotinoïde et n'est pas, en tout cas, localisé dans des globules graisseux qui font défaut dans les cellules au moment où il est formé.

c) *Liquéfaction de la gélatine.*

Une culture en strie, sur moût gélatiné à 12 %, présente, au bout de 8 jours à 20°, l'aspect précédemment décrit, mais vers le 10^e jour, les bords de la culture s'affaissent, il y a commencement de liquéfaction de la gélatine. La culture glisse au fond du tube dans la gélatine déjà liquéfiée où elle forme un dépôt blanc grisâtre; la liquéfaction se poursuit ensuite lentement.

On n'observe pas de liquéfaction de la gélatine dans la colonie géante au bout d'un mois : celle-ci commence seulement après 45 jours; on voit donc qu'elle se produit beaucoup plus lentement dans la colonie géante que dans la culture en strie. Mais pareil cas n'est pas exceptionnel et il arrive même que la colonie géante ne liquéfie pas du tout la gélatine : CAPITAIN [1] a décrit, en effet, un *Zygosaccharomyces* isolé de la fermentation d'une poire qui liquéfiait la gélatine au bout de 17 jours dans une culture en strie, tandis qu'en colonie géante la liquéfaction ne s'était pas produite au bout de 105 jours.

**7) Caractères biochimiques :
essais de fermentations sur différents sucres.**

Nous avons suivi le procédé des petites fermentations de LINDNER [5].

Le sucre à essayer (solution de sucre à 30 % stérilisée, en ampoules, de l'Institut Pasteur) est additionné d'eau de levure et placé avec une quantité importante de la Levure étudiée dans une chambre de VAN TIEGHEM stérilisée par lavage à l'alcool et flambage.

Cette chambre est remplie de telle façon qu'après fermeture il ne reste aucune bulle d'air à l'intérieur. La fermentation produit des bulles de gaz carbonique qui sont visibles sous la lamelle et finissent même parfois par soulever celle-ci. A 25°, lorsque le sucre est fermentescible, les bulles sont visibles 10 à 12 heures après l'ensemencement. Nos essais ont donné les résultats suivants :

Avec les mannose, fructose, glucose, galactose, raffinose : forte fermentation.

Avec le lactose et le maltose : aucune fermentation.

**III. ÉTUDE COMPARATIVE DE LA LEVURE DE SISAL
AVEC LE ZYGOSACCHAROMYCES MARXIANUS**

La Levure de Sisal que nous venons d'étudier présente une ressemblance évidente avec le *Zygosaccharomyces Marxianus*. On peut donc se demander si, comme S.F. ASHBY l'avait pensé, elle ne serait pas à rapporter à cette espèce. Une étude comparative de la Levure de Sisal avec le *Z. Marxianus* s'imposait donc. A cet effet nous avons fait venir du « Centraal Bureau voor Schimmelcultures » de Baarn (Hollande) une souche de *Z. Marxianus* que nous avons comparée avec la Levure de Sisal.

Le *Z. Marxianus* isolé par Marx de grains de raisin, n'a été l'objet que d'une courte description de HANSEN [4] (1888), qui l'a désigné sous le nom de *Saccharomyces Marxianus*. L'étude de cette Levure fut reprise seulement en 1929 par GUILLIERMOND et NEGRONI [3] qui ont démontré que ses asques sont précédés d'une conjugaison hétérogamique et que, par conséquent, la Levure doit être classée dans le genre *Zygosaccharomyces*, sous le nom de *Z. Marxianus*.

Depuis lors, Mme STELLING-DEKKER (1931) dans sa Monographie des Levures [9] a révisé cette espèce, ce qui l'a amenée à confirmer les observations de GUILLIERMOND et NEGRONI et à la maintenir dans le genre *Zygosaccharomyces*.

Néanmoins, l'étude de cette Levure restait par certains côtés incomplète et méritait d'être reprise. Nous avons donc étudié le *Z. Marxianus* parallèlement à notre Levure, ce qui nous a permis de vérifier l'exactitude des observations de Mme STELLING-DEKKER et de les compléter.

Le *Z. Marxianus* nous a donné sur moût de bière liquide, au bout de 30 jours à 25°, un anneau très épais de 1 cm de hauteur.

Les formes mycéliennes du *Z. Marxianus* (fig. 8), déjà mises en évidence par HANSEN, sont extrêmement abondantes sur tous les milieux solides, alors qu'elles sont rares dans notre Levure.

Les asques du *Z. Marxianus* se forment presque toujours par parthénogénèse (fig. 9) et renferment le plus souvent 1 à 2 ascospores ; dans les asques très allongés, on peut en compter jusqu'à 6 et 8. Les ascospores très réfringentes comme dans la Levure de Sisal, sont cependant plus larges, moins longues et moins incurvées dans les asques iso- ou hétérogamiques (fig. 10). Dans les asques parthénogénétiques elles ont des formes identiques mais des dimensions beaucoup plus grandes (fig. 9).

La conjugaison n'a été observée que rarement : elle est le plus souvent hétérogamique (fig. 10).

Cette Levure s'est donc considérablement modifiée, au point de vue de la formation de ses asques, depuis le moment où elle a été étudiée par GUILLIERMOND et NEGRONI (1929) ; elle a évolué vers la parthénogénèse. Déjà en 1931, Mme STELLING-DEKKER avait signalé une prédominance de la parthénogénèse, mais c'est là un caractère de régression que l'on obtient fréquemment dans les Levures à la suite de longues cultures au laboratoire et dont nous ne pouvons, par conséquent, tenir aucun compte dans notre comparaison entre le *Z. Marxianus* et la Levure de Sisal.

Nous avons, en outre, déterminé les températures maxima et optima du bourgeonnement du *Z. Marxianus* qui n'avaient pas été étudiées. Elles se rapprochent beaucoup de celles obtenues avec la Levure de Sisal, mais sont un peu plus élevées : la température maxi-

ma est située entre 48 et 49°, la température optima entre 29 et 30°, tandis que nous avons trouvé pour la Levure de Sisal respectivement 47-48° et 28-29°.

La culture en strie sur moût gélosé du *Z. Marxianus* est, après 8 jours à 20°, peu brillante, légèrement humide, de couleur crème, très ornementée, avec de fins festons enroulés. Dans les mêmes conditions, la Levure de Sisal donne une culture de 0 cm, 5 de largeur, légèrement brillante, très finement plissée, peu ornementée, de couleur blanc grisâtre, à bords légèrement ondulés, formant des découpures peu profondes.

La colonie géante sur moût gélosé du *Z. Marxianus* (pl. XXX, fig. du bas) est très belle et très caractéristique ; elle est largement étalée, très ornementée, d'aspect mat, sauf au centre et sur les bords qui sont légèrement humides et brillants, de couleur gris jaunâtre. Au bout de 30 jours à 20°, elle a un diamètre de 11 cm. La colonie géante de la levure de Sisal, après 30 jours à 20°, est très différente : elle est à peu près circulaire, de diamètre 5 cm, de couleur blanc grisâtre, avec une teinte plus brune au centre. Elle n'offre aucune découpure et ses bords sont légèrement ondulés.

Le tableau comparatif suivant résume les observations faites sur les deux Levures. Dans la première colonne, nous indiquons les résultats obtenus sur le *Z. Marxianus* par GUILLIERMOND et NEGRONI et par Mme STELLING-DEKKER, auxquels nous ajoutons en italique nos propres résultats. La deuxième colonne contient les observations correspondantes faites sur notre Levure.

Zygosaccharomyces Marxianus.

Levure de Sisal

1° Caractères macroscopiques de la végétation sur moût de bière.

Mme Stelling-Dekker :

Dépôt — léger voile — anneau
Après 30 j. à 25° : anneau de 1 cm.
de hauteur.

Dépôt — pas de voile — trace d'anneau.

2° Formes et dimensions des cellules.

a) Sur moût de bière.

Mme Stelling-Dekker :

— Après 24 h. à 25° :
cellules ovales
(2,5 à 5,5) μ
sur (6 à 13) μ

— Après 24 h. à 25° :
Cellules ovales
(1,5 à 4,5) μ
sur (5 à 10) μ
cellules rondes : D. moyen : 3,5 μ

- Après 3 j. à 25° :
cellules identiques — pas de dépôt.
- Après 14 j. à 25° :
dépôt et anneau.
- Après 30 j. à 25° :
cellules identiques à celles décrites plus haut, avec en plus petits chapelets de bourgeons, un anneau plus large et une très fine pellicule.
- Après 3 j. à 25°
dépôt — pas d'anneau.
- Après 14 j. à 25°
dépôt — pas d'anneau.
- Après 45 j. à 25°
cellules un peu plus petites que celles décrites plus haut :
cellules ovales : (1,5 à 2,5) μ
sur (4,5 à 9) μ
cellules rondes : D : 1,5 à 2,5 μ
trace d'anneau.

b) *Sur moût de bière gélosé.*

Mme Stelling-Dekker :

- Après 3 j. à 25° :
cellules ovales ou allongées de (2 à 5) μ .
sur (6 à 33) μ .
quelques chapelets de bourgeons.
- Cultures en strie :
après 75 j.
grise — un peu visqueuse, brillante, étalée en réseau plissé, bords dentelés.
- Après 3 j. à 25°
cellules ovales ou allongées (1,5 à 3,5) μ
sur (3 à 9) μ .
pas de chapelets de bourgeons
pas de formes mycéliennes.
- Culture en strie :
Après 45 j.
blanc jaunâtre, légèrement brillante, très finement plissée, bords largement découpés.

c) *Formes mycéliennes.*

- Nous en avons observé de très abondantes sur tous les milieux solides.
- Assez rares sauf dans les cultures de gélose de Gorodkova d'au moins 30 j.

3° *Températures maxima et optima de bourgeonnement.*

- | | |
|-------------------------|-------------------------|
| Temp. maxima : 48 — 49° | Temp. maxima : 47 — 48° |
| Temp. optima : 29 — 30° | Temp. optima : 28 — 29° |

4° *Etude de la sporulation*

a) *Formation des spores.*

Très difficile selon Hansen :

- Guilliermond et Negróni constatent une sporulation abondante sur carotte après enrichissement préalable en ascospores par maintien d'une culture à 50° ayant pour effet de tuer les cellules végétatives et ne peuvent obtenir ce phénomène sur gélose de Gorodkova.
- Mme Stelling-Dekker observe une sporulation sur plâtre et sur pomme de terre.
- Nous n'avons pas pu obtenir d'ascospores sur gélose de Gorodkova après 30 j.
- Sporulation abondante sur carotte (sans enrichissement préalable en ascospores) au bout de 2 j. à 25°
- Sporulation moins abondante sur moût de bière gélosé au bout de 5 à 6 j. à 25°.
- Sporulation très difficile et très lente sur gélose de Gorodkova (cependant sporulation abondante dans les très vieilles cultures d'au moins un mois).

Guilliermond et Negroni :

- Asques se produisant après copulation hétérogamique, assez souvent après copulation isogamique ou parthénogénétiquement.
- Asques se produisant après copulation isogamique surtout ;
- Assez souvent après copulation hétérogamique.

Mme Stelling-Dekker :

- Asques se produisant parthénogénétiquement ou après copulation iso- ou hétérogamique.
- Quelques cas de parthénogénèse.
- *Parthénogénèse prédominant de beaucoup.*

b) *Formes et dimensions des asques et des ascospores.*

Guilliermond et Negroni :

- Asques renfermant de 1 à 3 ascospores (exceptionnellement 8).
- Asques renfermant de 2 à 4 ascospores, jamais davantage.
- ascospores de formes très variables : rondes, ovales, le plus souvent réniformes. Elles mesurent : (3,8 à 4) μ sur 2,5 μ .
- Ascospores nettement réniformes, très allongées, présentant souvent l'aspect de bananes ; elles mesurent : (3 à 6) μ sur (1 à 1,5) μ .

Mme Stelling-Dekker :

- Ascospores réniformes — rondes ou ovales — lisses. (3 à 4,5) μ sur (2 à 2,5) μ

c) *Germination des ascospores*

Guilliermond et Negroni :

- Ascospores bourgeonnent en formant une cellule très allongée ressemblant à un tube germinatif.
- Ascospores se gonflent, deviennent ovoïdes et forment des bourgeons qui s'allongent en chapelets.

6° *Aspect macroscopique des cultures sur milieux solides*

a) *cultures en strie*

- Sur moût gélosé :
Après 8 j. à 20° nous avons obtenu une culture légèrement brillante et humide — de couleur blanc crème — très ornementée avec fins festons enroulés.
- Sur moût gélosé.
Après 8 j. à 20° : culture de 0 cm 5 de largeur — légèrement brillante — très finement plissée — peu ornementée — couleur blanc grisâtre — bords largement ondulés formant des découpures peu profondes.

b) Colonies géantes

— Sur moût gélosé :

Au bout de 30 j. à 20° :

Nous avons obtenu une très belle colonie largement étalée, très ornementée — d'aspect mat, sauf au centre et sur les bords qui sont légèrement humides et brillants — de couleur gris jaunâtre.

Diamètre : 11 cm.

— Sur moût gélatiné

Mme Stelling-Dekker :

Après 45 j. à 15° : colonie dont centre en cône ponctué, alentour dépression circulaire, périphérie un peu ridée, ponctuée — sillons radiaux peu profonds — bords découpés.

— Sur moût gélosé :

Après 30 j. à 20° :

Colonie à peu près circulaire — épaisseur uniforme, couleur blanc grisâtre avec teinte plus brune au centre et sur quelques plis saillants — non découpée — bords à peine ondulés.

Diamètre : 5 cm.

— Sur moût gélatiné

Après 30 j. à 20° : colonie d'épaisseur à peu près uniforme blanc crème — tache centrale s'étendant vers les bords et recouvrant déjà plus de la moitié de la colonie, de couleur brun rouge — quelques sillons peu profonds vers la périphérie — diamètre : 1,2 cm.

c) Liquéfaction de la gélatine

Mme Stelling-Dekker :

— Négative après 45 j.

— Commence au bout de 10 j. et se poursuit lentement.

7° Caractères biochimiques :
essais de fermentation sur différents sucres.

Mme Stelling-Dekker :

Mannose : +
Fructose : +
Glucose : +
Maltose : —
Galactose : +
Lactose : —
Raffinose : +
Saccharose : +

Mannose : +
Fructose : +
Glucose : +
Maltose : —
Galactose : +
Lactose : —
Raffinose : +
Saccharose : +

IV. CONCLUSIONS

L'étude comparative que nous venons de faire de la Levure de Sisal et du *Zygosaccharomyces Marxianus* révèle, entre ces deux espèces, des ressemblances étroites :

Ces deux Levures ont des cellules de formes semblables et tendent l'une et l'autre à former des rudiments mycéliens. Toutes deux présentent à l'origine de l'asque une conjugaison à tendance hétérogamique et ont des ascospores réniformes. Dans les deux Levures, les températures maxima et optima pour le bourgeonnement et la sporulation sont sensiblement les mêmes. Enfin, il y a identité dans les caractères de fermentation et, en particulier, les deux Levures n'ont aucune action sur le maltose.

Cependant, cette étude met également en relief des différences importantes :

En premier lieu, si les formes des cellules sont les mêmes dans les deux espèces, il n'en est pas de même de leurs dimensions : les cellules de la Levure de Sisal sont nettement plus petites que celles du *Z. Marxianus*. En outre, les formations mycéliennes sont beaucoup plus fréquentes et beaucoup plus développées dans le *Z. Marxianus* que dans notre Levure. Sur moût de bière liquide, la Levure de Sisal ne forme qu'un léger anneau, alors que le *Z. Marxianus* produit un anneau très développé.

En second lieu, il y a une différence dans la conjugaison ; dans le *Z. Marxianus*, celle-ci est presque toujours hétérogamique d'après les descriptions de GUILLIERMOND et NEGRONI, confirmées par celles de Mme STELLING-DEKKER et les nôtres. Dans la Levure de Sisal c'est l'isogamie qui prédomine de beaucoup. D'autre part, les ascospores sont sensiblement plus petites que dans le *Z. Marxianus* : elles ont aussi une forme plus allongée et plus fortement incurvée. Enfin, les cultures en strie et les colonies géantes de ces deux Levures ont des aspects tout différents. La Levure de Sisal possède, en outre, la propriété de liquéfier la gélatine, propriété que n'a pas le *Z. Marxianus*.

Il est donc certain que la Levure de Sisal ne peut être rapportée au *Z. Marxianus* et il ne nous paraît pas possible de la considérer comme une simple variété de cette dernière. Les différences constatées nous semblent suffisantes pour justifier, pour notre Levure, la création d'une nouvelle espèce du genre *Zygosaccharomyces*, évidemment très voisine du *Z. Marxianus*, mais bien différente par la plupart de ses caractères.

Nous proposons de dédier cette espèce au savant mycologue anglais qui l'a isolée, en la désignant sous le nom de *Zygosaccharomyces Ashbyii*.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. — CAPITAIN (E.). — Contribution à l'étude morphologique et physiologique des Levures de poires. *Thèse Doctorat ès Sciences*. Lyon. 1930.
 2. — GUILLIERMOND (A.). — Les Levures. Doin. 1912.
 - Zygosaccharomyces Nadsonii* : nouvelle espèce de Levure à copulation hétérogamique. *Bull. Soc. Myc. de France*. T. XXXIV. 1918.
 - *Zygosaccharomyces Pastori* : nouvelle espèce de Levure à copulation hétérogamique. *Bull. Soc. Myc. de France*. T. XXXVI, p. 203. 1920.
 - Clef dichotomique pour la détermination des Levures. Le François. 1928.
 3. — GUILLIERMOND et NEGRONI. — Sur la présence d'une copulation hétérogamique dans le *Saccharomyces Marxianus*. *C.R. Soc. Biol.* T. 101, p. 564. 1929.
 4. — HANSEN (Em. Chr.). — Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. VII. Action des ferments alcooliques sur les diverses espèces de sucres. *C. R. des Trav. du Lab. de Carlsberg*. T. II, p. 143. 1888.
 5. — LINDNER (P.). — Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben p. 234-407-437. Berlin 1905.
 - Atlas der Mikroskopischen Grundlagen der Gärungskunde. Berlin. 1910. Zweite Auflage-Tafel 133.
 6. — NADSON et KONOKOTINE. — *Guilliermondia fulvescens* : nouveau genre de la famille des Saccharomycétacées. *Bull. Trav. de l'Ec. de Médecine des Femmes de Saint-Petersbourg*. 1913.
 7. — NADSON et KRASSILNIKOV. — *Guilliermondella selenospora*. nov. g. n. sp. *C.R. Ac. Sc.* T. 187. p. 307. 1928.
 8. — RENAUD (J.). — Etude des races de Levures dans les vins blancs de Pouilly-sur-Loire (Nièvre). *Rev. gén. de Bot.* 1935.
 9. — STELLING-DEKKER (N.M.). — Die Hefesammlung des Centraal Bureau voor Schimmelcultures. *Beitrage zu einer Monographie der Hefearten*. Teil I. p. 362. 1931.
-

RECHERCHES SUR LA GÉNÉTIQUE DES ASCOMYCÈTES DU GENRE *NEUROSPORA*

par M. Fernand MOREAU et Mlle C. MORUZI

(Suite)

CHAPITRE PREMIER

ORIGINE ET FILIATION DES SOUCHES ÉTUDIÉES

Les *Neurospora* dont nous avons étudié la génétique existent dans notre collection sous la forme d'un certain nombre de souches, dont chacune est issue d'une ascospore. Une souche sera donc pour nous dans ce travail l'ensemble des cultures issues d'une même ascospore.

Certaines de nos souches ont pris naissance en dehors de notre laboratoire. Telles sont par exemple les souches dites A et B de DODGE; ce sont deux souches complémentaires (de signes opposés) du *Neurospora sitophila* que nous tenons du Centraalbureau voor Schimmelculturen de Baarn (Hollande) et dont l'origine première est en Allemagne. De même notre souche n° 6 nous vient des impuretés de cultures industrielles de blanc de champignon de la région de Bordeaux.

La plupart de nos souches de *Neurospora* sont au contraire nées dans nos cultures et ont été obtenues de la manière suivante :

Un ou quelques périthèces sont écrasés dans une petite quantité d'eau stérile placée dans un verre de montre flambé; les spores s'étant déposées au fond du verre de montre, on écarte avec une

aiguille flambée les plus gros débris des enveloppes périthéciales ; les autres, qui surnagent, sont éloignés en rejetant avec précaution la majeure partie de l'eau du verre de montre. L'eau rejetée est remplacée par une petite quantité d'eau stérile dans laquelle les spores sont mises en suspension grâce à une agitation ménagée. A l'aide d'une pipette stérile, on recueille quelque gouttes du liquide et on les dépose dans une boîte de Petri à la surface d'un milieu nutritif stérile constitué par du moût de maïs gélosé. On y joint, en utilisant la même pipette, une grosse goutte d'eau stérile et, par des mouvements convenables du récipient, on amène une égale répartition du liquide et des spores qu'il tient en suspension sur toute la surface du milieu nutritif. Plusieurs boîtes de Petri, recevant chacune une dizaine de spores sont préparées à la fois comme il vient d'être dit.

Ces boîtes sont placées dans une étuve, d'abord à la température ordinaire, et qu'on chauffe de telle sorte que dans le délai d'une demi-heure sa température atteigne 90°. On retire les boîtes qu'on laisse refroidir lentement à la température du laboratoire. Après ces opérations, les spores sont en général aptes à la germination.

Le plus souvent, au bout de cinq à six heures, un peu moins en été, un peu plus en hiver, la germination des ascospores commence ; quelques-unes pourtant ne germent que d'une manière plus tardive, après leurs congénères.

On surveille la germination des spores au microscope et avant que le ou les tubes germinatifs qui apparaissent aux extrémités de la spore ne soient grandement développés, on prélève, à l'aide d'une aiguille plate, flambée puis refroidie, un fragment d'agar emportant avec lui une spore unique en germination ; s'il arrive que deux spores sont tout au voisinage l'une de l'autre, on s'abstient d'en faire le prélèvement.

Par un examen microscopique, on vérifie que le fragment d'agar n'emporte bien qu'une seule spore ; pour cela, on le dépose sur l'agar d'une boîte de Petri stérile, et on s'assure que la spore en germination est bien seule. On écarte alors avec une aiguille lancéolée stérile la majeure partie de l'agar en excès autour de la spore, et cette dernière, ainsi isolée, est introduite dans un tube stérile contenant du moût de maïs gélosé.

A l'étuve à 22 ou 23°, les tubes contenant chacun une ascospore

en germination donnent lieu en général en quelques jours à un développement mycélien évident.

Le pourcentage des cultures obtenues à partir des spores offrant un début de germination est assez irrégulier ; il est en général élevé ; souvent, toute une série de tubes préparés à la fois donnent un mycélium étendu ; rarement le pourcentage des insuccès atteint 50% ; dans quelques-uns de ces cas nous avons vérifié que le jeune mycélium issu de la spore en germination était demeuré en apparence intact, mais n'avait pas poursuivi son développement. Il nous est arrivé de provoquer ce dernier en retournant le fragment d'agar qui supporte la jeune spore en germination, de manière à enfermer celle-ci entre deux masses d'agar nutritif.

Dans quelques cas, en particulier quand il s'agissait de spores anormales, de spores plus grandes que les spores ordinaires, et dont nous avons constaté la lenteur de la germination, nous avons rendu le phénomène plus rapide en laissant séjourner durant 24 heures dans l'eau stérile les périthèces au préalable dilacérés.

Les mycéliums ainsi obtenus, chacun à partir d'une ascospore, reçoivent chacun un numéro d'ordre qui servira dans la suite à désigner toutes les cultures issues de lui par simple repiquage de ses hyphes ou par le semis de ses conidies.

Par ces procédés, il est possible de réaliser une collection étendue de souches nouvelles.

Deux de celles que nous avons obtenues méritent dès maintenant d'être signalées à l'attention du lecteur, car nous les avons choisies pour être l'origine d'un grand nombre d'autres : ce sont nos souches n^{os} 10 et 12.

Souche 10.

Notre souche 10 a pour origine une spore de très grande taille qui a été isolée d'un périthèce prélevé dans une culture mixte de notre *Neurospora* souche de Bordeaux (souche 6) et du *Neurospora* B de DODGE.

Nous avons indiqué antérieurement que, lorsque ces deux souches sont confrontées après avoir été placées chacune dans une branche d'un tube en U renfermant du moût de maïs gélosé, il apparaît des périthèces fertiles dans la branche qui a reçu la souche 6.

C'est sans doute cette dernière qui produit également les péri-

thèces qu'on observe en boîtes de Petri dans les cultures mixtes des deux souches précédentes ; elle est sans doute l'origine de la spore géante d'où est issue notre souche 10. Cette spore était de taille beaucoup plus grande que les spores ordinaires et paraissait correspondre par sa taille à toutes les spores ou à presque toutes les spores d'un asque entier.

Nous avons en effet observé qu'il existe dans les asques de *Neurospora sitophila*, généralement pourvus de huit spores égales, des variations dans le nombre et la taille des ascospores. On y trouve parfois des spores en nombre moins considérable que dans les asques normaux, mais de taille plus élevée. Ainsi, deux spores peuvent être remplacées par une spore de taille un peu plus grande que d'ordinaire et que nous appelons une spore double. Ailleurs, on trouve des ascospores de grande taille qui présentent à maturité un aspect moniliforme et qui témoignent par la présence de deux étranglements transversaux qu'elles sont le résultat de la confluence de trois ascospores, aux contenus confondus sous une même membrane ; les étranglements qui décèlent l'origine multiple des spores peuvent d'ailleurs manquer ; les ascospores qui sont ainsi équivalentes à trois, quatre ou cinq ascospores ordinaires sont dites des spores géantes. Enfin, nous appelons des spores extra-géantes celles qui correspondent à un plus grand nombre d'ascospores simples et en particulier celle qui, formée seule dans l'asque, équivaut à huit ascospores normales.

C'est une telle spore extra-géante qui est à l'origine de notre souche 10. Celle-ci, issue sans doute de la souche 6, dans les cultures mixtes de la souche 6 et de la souche B de DODGE, diffère des précédentes en ce qu'elle est homothallique. C'est là un fait intéressant : par le semis d'une spore de très grande taille d'un *Neurospora* hétérothallique, nous avons fait apparaître le caractère homothallique que ne présentait pas jusque là cette espèce.

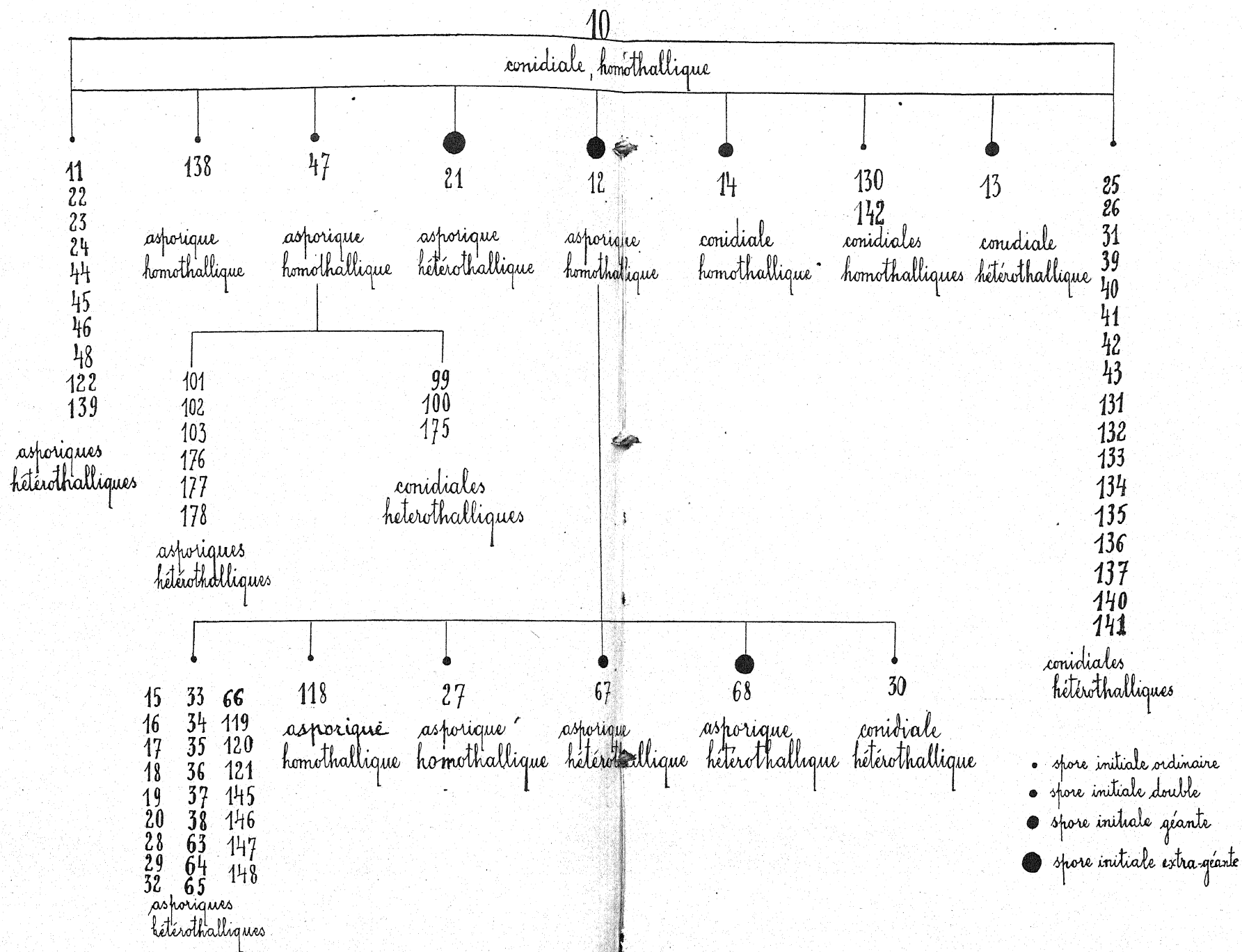
La souche 10 ainsi obtenue a été l'origine de toute une famille de souches dont nous étudierons plus tard les caractères.

Souche 12.

En particulier, de la souche 10, homothallique, nous avons isolé une ascospore extra-géante qui fut le point de départ de notre souche 12. Celle-ci est homothallique, comme la souche 10, mais en outre, elle est dépourvue de conidies : son mycélium demeure inco-

TABLEAU I

FILIAISON D'UN CERTAIN NOMBRE DES SOUCHES ÉTUDIÉES.



lore. C'est là pour le *Neurospora sitophila* un phénomène inattendu.

La souche qui le présente a été suivie dans sa descendance, et de nombreuses souches en ont été obtenues.

Le présent travail est surtout consacré à exposer l'histoire des souches 10 et 12 et de leur descendance. Aussi, dès maintenant, indiquons-nous dans le tableau ci-après (Tableau I) la filiation de la plupart des souches étudiées ici :

Toutes ces souches n'ont pas exactement la même valeur : certaines tirent leur origine d'une ascospore de taille ordinaire, d'une ascospore simple ; d'autres ont à leur origine une spore double, une spore géante ou une spore extra-géante. Le tableau ci-joint marque ces différences.

On a séparé dans ce tableau les souches conidiales et les souches aconidiales, indiqué les souches homothalliques et les souches hétérothalliques. Ainsi disposé, il servira de tableau de référence et nous prions le lecteur de s'y reporter pour retrouver la filiation des principales souches dont il va être question.

On trouvera plus loin les tableaux qui indiquent la généalogie des souches issues de la confrontation des précédentes.

CHAPITRE II

ANALYSE GÉNÉTIQUE DE QUELQUES SOUCHES DE *NEUROSPORA*

Les huit spores, de taille ordinaire, d'un asque normal naissent chacune avec un noyau ; leur formation est précédée immédiatement par les mitoses de l'asque dont il y a lieu de penser que deux au moins sont réductrices comme elles paraissent l'être dans les asques dont l'étude cytologique a pu être faire à ce point de vue et comme Miss COLSON [26] admet qu'elles le sont effectivement chez le *Neurospora tetrasperma* ; aussi ne s'étonnera-t-on pas de constater que ces huit spores n'engendrent pas toujours des mycéliums identiques, en d'autres termes n'ont pas toujours la même constitution génétique : DODGE et ses collaborateurs [24, 33, 34, 36, 37, 38] ont en effet montré que dans certains cas, quatre spores de l'asque engendrent chacune un mycélium conidial, chacune des autres un mycélium aconidial, et que dans les espèces hétérothalliques, quatre spores sont affectées d'un signe et les quatre autres du signe opposé. L'asque est le siège de disjonctions de caractères, sans doute liées à la méiose et qui instituent dans les spores, envisagées au point de vue de la génétique, un état de choses nouveau ; chaque spore peut engendrer une « nouveauté », grâce à des associations de caractères qui peuvent n'avoir pas encore été réalisées, et c'est dans cette possibilité que trouve sa justification la notion de souche, au sens où nous entendons ce mot dans ce travail. Aussi l'analyse génétique d'un asque peut-elle se faire en observant les caractères des souches issues de ses spores. Nous trouvons de même dans l'observation des souches issues d'une souche originelle un moyen d'aborder l'étude de la constitution génétique de celle-ci ; un autre consistera à étudier les disjonctions qu'elle offre, non plus dans l'asque, à l'occasion de la méiose, mais en cours de végétation.

C'est par ces procédés que nous avons tenté l'analyse génétique de quelques-unes de nos souches de *Neurospora*.

Parmi elles, il en est à qui leur origine, à partir de spores de grande taille, vaut un intérêt particulier.

En effet, les spores de taille supérieure à la taille ordinaire, formées dans les asques en nombre inférieur au nombre habituel, renferment deux ou plusieurs des noyaux qui normalement sont répartis entre les huit ascospores ; elles contiennent en puissance les caractères qui sont séparés dans les souches issues des ascospores normales ; en d'autres termes, adoptant le langage de la représentation factorielle des caractères, elles renferment à la fois les gènes qui se distribuent généralement entre les ascospores des asques normaux ; on peut espérer de leur examen des documents sur les phénomènes de dominance qui vont se produire entre des gènes de nature opposée, de potentialités antagonistes, et qui vont exercer leur action contradictoire au sein d'un même mycélium.

On se souvient du vif intérêt que suscita, il y a quelques années, une expérience délicate de BURGEFF [39] : on réalise l'anastomose, la soudure de deux mycéliums de signes contraires d'une *Mucorinée*, le *Phycomyces nitens*, on suit le développement du mycélium issu de cette greffe et on surveille la réapparition des caractères propres aux mycéliums expérimentalement rapprochés.

Les souches issues de nos spores de grande taille des *Neurospora* offrent le même intérêt ; elles ont la même valeur génétique que si elles résultaient d'une greffe expérimentale de deux ascospores ou de deux mycéliums ; ce sont des « chimères », qui réunissent dans un même organisme complexe les gènes différents, peut-être incompatibles, de deux organismes simples, dont nous essayerons de surprendre la séparation des caractères accidentellement réunis.

C'est d'elles que nous nous occuperons tout d'abord. Nous rapporterons les résultats de nos observations sur les souches 10, 12, 17, 47.

Rappelons que la souche 10, issue d'une ascospore extra-géante de *Neurospora sitophila*, espèce jusqu'ici tenue pour hétérothallique, se montre homothallique ; l'aspect général de ses cultures, avant la formation des périthèces, est celui des *Neurospora sitophila* ordinaires, par exemple celui de la souche 6 dont elle est issue : elles se couvrent en peu de temps d'une abondante production d'oidies de couleur saumon.

La souche 12, issue d'une ascospore extra-géante de la souche

précédente, se montre homothallique, comme elle, mais, dépourvues de conidies, ses cultures sont incolores. A l'état spontané, la souche 12, et celles qui sont comme elle privées de conidies, ont moins de chances de prospérer que les souches abondamment conidifères telles que 10 ; dans les cultures, on assure aisément leur développement par le repiquage de leur mycélium. La souche 27, issue d'une spore double de la souche 12, est comme celle-ci homothallique et conidiale.

Quant à la souche 47, elle est issue d'une spore un peu plus grande que les spores ordinaires qui fut prélevée dans un périthèce de la souche 10. Elle est homothallique comme la souche 10 elle-même, mais aconidiale. Elle ressemble par ces deux caractères à la souche 12.

Ces diverses souches nous ont offert des variations, soit en cours de végétation, soit à l'occasion de la naissance de souches nouvelles. Les premières répondent aux « variations végétatives » et peuvent être appelées des somations ; les secondes sont liées à la méiose et constituent des mutations. Les caractères sur lesquels elles portent sont les mêmes, elles offrent la même soudaineté ; le mécanisme profond qui est à leur origine n'est peut-être pas essentiellement différent dans les deux cas ; aussi nous arrivera-t-il de désigner sous le même nom de « variantes » les formes nouvelles auxquelles elles donnent naissance. Pourtant, dans leur description nous trouverons avantage à les distinguer les unes des autres.

(à suivre)

NOUVELLES OBSERVATIONS SUR LA SEXUALITÉ DES LEVURES ET QUELQUES CONSIDÉRATIONS SUR LA PHYLOGÉNIE DE CES CHAMPIGNONS

par M. A. GUILLIERMOND

(Suite)

B. — Observations cytologiques.

Bien que nous ayons consacré déjà une étude très précise et très détaillée aux phénomènes nucléaires qui accompagnent la conjugaison des ascospores dans le *Saccharomyces Ludwigi* et dans la Levure Johannisberg II, il nous a paru intéressant de la reprendre sur le *S. paradoxus*.

Pour cela, nous avons utilisé la méthode suivante : des asques ont été mis à germer sur tranche de carotte pendant des périodes variant de 12 à 24 heures, puis les fragments du substratum contenant la levure ont été fixés au liquide de BOVIN pendant 12 heures et lavés à l'alcool à 70%. Les frottis exécutés après ces opérations ont été colorés par l'hématoxyline ferrique. Il est facile d'observer ainsi tous les stades de la conjugaison des ascospores ou des cellules haploïdes issues de la germination de celles-ci qu'il est presque impossible de distinguer dans ces préparations.

On observe d'abord les deux cellules unies par de petites protubérances, puis des stades où la cloison séparant les deux cellules au point où elles sont unies par leurs protubérances s'est résorbée et où celles-ci communiquent l'une à l'autre par un canal (Pl. XXVIII, fig. 1 à 4). Les deux noyaux, d'abord éloignés l'un de l'autre, se rapprochent (Pl. XXVIII fig. 5 à 12), puis finissent par se confondre

en un seul noyau diploïde présentant d'abord une forme allongée ou l'aspect d'un haltère (Pl. XXVIII, fig. 13 à 17) qui ensuite s'arrondit et devient très gros (Pl. XVIII, fig. 18 à 33). Aussitôt la caryogamie effectuée, la zygosporé germe en donnant par bourgeonnement une première cellule végétative diploïde. (Pl. XXVIII, fig. 34 à 42).

La division nucléaire ne commence qu'au moment où le bourgeon a presque achevé sa croissance. Elle s'effectue comme dans le bourgeonnement ordinaire. Le noyau prend un aspect fusiforme puis s'allonge beaucoup de manière à ce que l'une de ses extrémités pénètre dans le bourgeon (Pl. XXVIII fig. 37 à 39): il se transforme alors en un haltère à partie effilée très allongée et dont une tête pénètre dans le bourgeon tandis que l'autre demeure dans la cellule elle-même. La partie effilée finit par se rompre et les deux renflements de l'haltère deviennent les deux noyaux, celui de la cellule mère et celui du bourgeon.

Ce processus présente toutes les apparences d'une amitose et c'est ainsi que nous l'avons interprété dans nos recherches de 1904(1). Il est certain, d'autre part, que le processus de mitose décrit pendant le bourgeonnement des Levures par divers auteurs (FUHRMANN [9], SWELLENGREBEL [30], MC KÄTER [21] résultent d'interprétations incorrectes d'apparences produites par la vacuole dont les corpuscules métachromatiques se colorent parfois par l'hématoxyline ferrique. Cependant, en l'état actuel de nos connaissances, il est assez difficile, au point de vue théorique, d'admettre que cette division soit une simple amitose, à moins que ce phénomène assure par un processus quelconque le partage égal de la chromatine entre les deux noyaux. Certains aspects des noyaux en voie de division obtenus dans des préparations fortement regressées suggéreraient que la division pourrait s'opérer par une mitose assez semblable à celle que l'on a décrite dans les Ustilaginales (fig. 7). On a parfois, au début de la division, l'impression que le noyau serait formé d'un fuseau très

(1) Nous avons pu obtenir dans *Schizosaccharomyces octosporus* d'une manière assez nette les mitoses précédant la formation des ascospores dans l'asque. Ces mitoses qui rappellent tout à fait celles des Ascomycètes supérieurs n'ont rien de semblable avec les divisions obtenues pendant le bourgeonnement des Levures [11, 1].

allongé au milieu duquel se trouveraient des chromosomes agglomérés en masse confuse et que ce serait ceux-ci qui, émigrant ensuite aux deux pôles, après allongement de fuseau, produiraient la figure en haltère (fig. 7). Rappelons d'ailleurs que dans *Hansenula saturnus* (1), nous avons décrit, dans le bourgeonnement de la zygospore, des figures rappelant nettement une mitose. Nous serions donc tenté d'admettre que la division nucléaire s'opère par une mitose

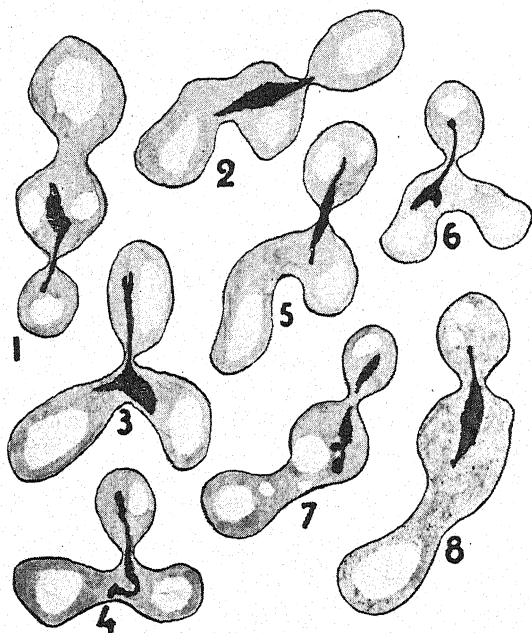


Fig. 7. — Divers stades de la division nucléaire pendant le bourgeonnement de la zygospore dans *Saccharomyces paradoxus*, à un très fort grossissement. (3.000 environ) (Fixation au liquide de Bouin et coloration à l'hématoxyline ferrique).

rendue un peu particulière par le mode de bourgeonnement des cellules, sans toutefois pouvoir en fournir aucune preuve.

Un phénomène très curieux que nous avons déjà observé dans

(1) Il est probable que *Hansenula Saturnus* présente le même mode de sexualité, car, dans nos recherches de 1904 [11, e], nous avons constaté qu'il n'y a guère qu'un quart des ascospores qui se conjuguent. Cette conjugaison n'a été observée dans aucune des autres espèces du genre *Hansenula*, mais il y aurait lieu cependant de reprendre l'étude de la germination de leurs ascospores qui n'a pas été suivie jusqu'ici d'une manière suffisamment précise.

la Levure de JOHANNISBERG II [11, e] est l'indépendance très nette entre la caryogamie et le bourgeonnement de la zygospore que l'on constate assez fréquemment. Il arrive souvent, en effet, que le bourgeonnement de la zygospore commence à un moment où les noyaux ne sont pas encore fusionnés : on trouve des zygospores dans lesquelles le bourgeon est assez gros et où les deux noyaux haploïdes sont encore éloignés l'un de l'autre (1) (Pl. XXVIII fig. 50 à 58) ; on en observe d'autres où le bourgeonnement est déjà très avancé alors que les noyaux sont seulement rapprochés ou en voie de fusion (Pl. XVIII, fig. 54, 55 et 58). Enfin dans quelques cas beaucoup plus rares, on constate que les deux noyaux ne se fusionnent pas et se divisent simultanément par une sorte de division conjuguée qui rappelle celle que l'on observe dans le mycélium des Ustilaginales (Pl. XVIII, fig. 59). En ce cas, les deux noyaux prennent la forme d'haltères dont les deux renflements qui se trouvent séparés dans le bourgeon semblent se confondre pour constituer dans celui-ci un noyau unique, tandis que les deux renflements restés dans la zygospore se reconstituent en deux noyaux distincts. Il nous a même paru que, dans certains cas, il pouvait se former, dans le bourgeon, deux noyaux distincts qui ne tardent pas à se fusionner. Nous avons déjà constaté des phénomènes semblables dans la Levure de JOHANNISBERG II et nous avons pu les retrouver d'une manière très nette dans nos préparations de cette Levure datant de 1904 (Pl. XXIX, fig. 11 à 33). Nous considérons cette curieuse particularité qui a échappé aux investigations de WINGE comme un acheminement vers la constitution du dicaryon qui caractérise la diplophase des Euscomycètes et des Basidiomycètes, interprétation que nous avons déjà formulée à propos de la Levure de JOHANNISBERG II (11, g).

(1) On trouve parfois des zygospores dans lesquelles la caryogamie n'est pas encore opérée et qui se sont formées par conjugaison de deux cellules haploïdes ayant déjà bourgeonné et dont les bourgeons sont encore adhérents à elles. Il est bien entendu qu'il n'y a pas de confusion possible entre ces figures (dans lesquelles les bourgeons adhérents à la zygospore sont entièrement séparés de celle-ci par une cloison et renferment un noyau) et les figures résultant du bourgeonnement des zygospores dans lesquelles la caryogamie ne s'est pas effectuée et où le bourgeon en formation est encore dépourvu de noyaux.

NOUVELLES DONNÉES SUR LA PHYLOGÉNIE DES LEVURES

Ces faits ont une conséquence importante au point de vue de la phylogénie des Levures qui a échappé à KRUIS et SATAVA, ainsi qu'à WINGE. Ils apportent, en effet, une confirmation remarquable à la théorie que nous avons formulée en 1931, à la suite des travaux de Mlle WIEBEN, sur les relations des Levures diplobiontiques avec les Exoascées. Ils accentuent ces relations en démontrant que les espèces du genre *Saccharomyces* ne sont pas strictement diplobiontiques, mais présentent le plus souvent comme *Taphrina epiphylla* et *T. Klebahnii* une phase haploïde très courte, limitée à quelques cellules provenant du bourgeonnement des ascospores.

La place des Exoascées dans la classification des Ascomycètes est restée jusqu'ici très incertaine. Beaucoup de Botanistes ont rapproché les Exoascées du genre *Ascocorticium*, en les considérant soit comme des formes dégradées, soit comme des formes primitives des Ascomycètes supérieurs. C'est ainsi qu'ENGLER et PRANTL [8] les rangent avec les Ascocorticiacées, représentés par le genre *Ascocorticium*, dans les Protodiscinées qu'ils placent en tête des Ascomycètes supérieurs. LOTSY (*Vorträge über botanische Stammesgeschichte*, 1907) [17] rapproche aussi les Exoascées des Ascocorticiacées qu'il classe dans un même groupe, celui des Exoascinées, en les regardant comme des Ascomycètes supérieurs dégradés. Mme GWYNNE-VAUGHAN (*Fungi : Ascomycetes, Ustilaginales, Uredinales* (1922) [12] divise les Ascomycètes en trois grands groupes : les Pléctomycètes, les Discomycètes et les Pyrénomycètes. Les Pléctomycètes sont subdivisés eux-mêmes en trois ordres dont le dernier, celui des Exoascales venant après les Erisyphales comprend les Ascocorticiacées et les Exoascées. Dans son livre récent : « *A Text-Book of Mycology* », S. A. BESSEY [3] range aussi les Exoascées et l'*Asco-*

corticium dans un même ordre, celui des Taphrinales subdivisés en Taphrinacées (Exoascées) et Ascocorticiacées, qui suit celui des Tubérales. HARDER [29] dans (*Lehrbuch der Botanik* de Strasburger, 1931) fait des Exoascées l'ordre des Exoascales qu'il range parmi les Ascomycètes supérieurs (Eusascomycètes), après les Tubérales. KNIEP [15] (*Die Sexualität der niederen Pflanzen*, 1928) adopte la même classification et ne songe pas à rapprocher les Levures diplobioniques des Exoascées malgré les travaux de Mlle WIEBEN qu'il relate cependant. Après avoir rapproché les Exoascées des Levures dans ses premiers travaux (1894) [6, a], DANGEARD [6, b] modifie ensuite son opinion et, dans sa classification des Ascomycètes (1907), range les Exoascées dans les Ascomycètes supérieurs (Diplogamétés), au voisinage des Erysiphacées et des Pyrénomacées.

Une autre opinion toute différente est celle soutenue récemment par LOWHAG [18], qui, s'appuyant sur la sexualité mise en évidence dans les Exoascées par les travaux de Mlle WIEBEN et rappelant celle des Ustilaginales, en vient à penser que les Exoascées ne seraient pas des Ascomycètes, mais des Ustilaginales revenues à un état ancestral. Chez ces Champignons, la baside, qui n'est qu'un asque dans lequel les spores sont rejetées à l'extérieur par des protubérances, serait revenue à l'état d'asque.

D'autres botanistes, au contraire, rapprochent les Exoascées des Levures. Gaston BONNIER et LECLERC DU SABLON (*Cours de Botanique*, fasc. V, p.1723) [4] classent les Levures dans la famille des Exoascées. VAN TIEGHEM et CONSTANTIN (*Eléments de Botanique*, 1918) [31] rangent aussi les *Taphrina* avec les Levures, l'*Eremascus* et le *Dipodascus* dans les Erémascacées, placées immédiatement avant les Gymnoascées et considérés comme des Ascomycètes inférieurs. PLANTEFOL (*Cours de Botanique et de Biologie végétale* [25] 1931) adopte la même classification.

D'autre part, les recherches de JUEL [14] tendent à rapprocher les Exoascées des Protomycétacées, en particulier du genre *Taphridium*, qui, selon ce savant, seraient aussi apparentées aux Endomycétacées. S'inspirant de ces idées, GÄUMANN [10] (*Vergleichende Morphologie der Pilze*, 1926) place en tête des Ascomycètes la sous-classe des Hémiascées (Protoascinées) comprenant deux ordres : 1° les Endomycétales avec les Dipodascacées, les Endomycétacées, les Saccharomycétacées ; 2° les Exoascales avec les Protomycétacées

et les Exoascées. Le genre *Ascocorticium* est, au contraire, rangé par cet auteur dans l'ordre des Pézizales. Mlle EFTIMIU (1927) [7], élève de DANGEARD, tout en repoussant toute parenté entre le genre *Taphridium* et les Exoascées, revient aux premières idées de son maître et tend à rapprocher les Exoascées des Levures.

Les données nouvelles sur la sexualité des Levures mises en lumière par les travaux de KRUIS et SATAVA, par ceux de WINGE et par ceux que nous venons d'exposer ici, établissent une relation incontestable, entre les Levures diplobiontiques (genre *Saccharo-*

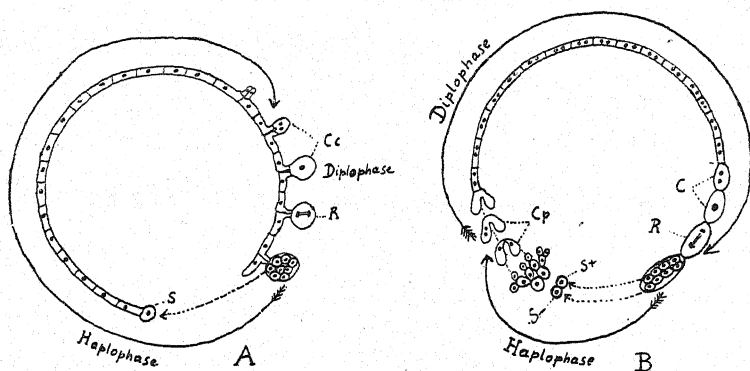


Fig. 8. — A. Schéma du cycle évolutif d'une Endomycétacée (*Eremascus*). Cc : Conjugaison et caryogamie. R : Réduction chromatique. S : Ascospores. Ce schéma correspond tout à fait, comme on peut le voir, à celui d'un *Zygosaccharomyces* (comparer avec la figure 3 A).

B. — Schéma du cycle évolutif du développement de *Taphrina epiphylla*. S+ : ascospore + ; S- : ascospore - ; Cp : conjugaison (cytogamie) C : caryogamie ; R : réduction chromatique. Ce schéma correspond exactement à celui d'une Levure du genre *Saccharomyces* (comparez le avec la figure 7, C).

mycodes) et les Levures à alternance de génération avec phase haploïde très courte (genre *Saccharomyces*), d'une part, et les Exoascées du type *Taphrina epiphylla*, d'autre part. Elles jettent donc par là même un jour nouveau sur le groupe des Exoascées. Jusqu'ici, la question du dicaryon mise à part, la différence essentielle entre le cycle de *T. epiphylla* et celui des Levures diplobiontiques résidait dans le fait que, dans *T. epiphylla*, la conjugaison s'opère, non entre les ascospores elles-mêmes, mais entre les conidies-levures issues de la germination des ascospores, alors que dans les levures, on croyait qu'elle ne pouvait avoir lieu qu'entre les ascospores elles-mêmes.

Cette différence subsiste pour le *Saccharomyces Ludwigi*, forme essentiellement diplobiontique, mais pas pour les espèces du genre *Saccharomyces*, maintenant qu'il est démontré que celles-ci se comportent exactement comme *T. epiphylla* et que leur sexualité se fait ordinairement, non entre les ascospores, mais entre les premières cellules haploïdes provenant de leur bourgeonnement. (Comparer la figure 3, C avec la figure 8, B). Ces Levures sont, avec les Exoascées, les seuls Ascomycètes chez lesquels on connaisse un développement comparable. Nous avons vu d'ailleurs que, dans les *Saccharomyces*, on constate un acheminement vers la constitution du dicaryon qui se trouve réalisé chez les Exoascées. Un rapprochement entre ces deux groupes de Champignons s'impose donc et il semble que les Exoascées, dont la position restait jusqu'ici si obscure, doivent être incorporés, avec les Endomycétacées et les Saccharomycétacées, dans le groupe des Protoascinées. On sait d'ailleurs que les Exoascées ont subi un développement comparable à celui des Saccharomycétacées et que, parmi elles, il existe des formes, comme *Taphrina deformans*, où la sexualité semble s'opérer presque immédiatement avant la formation de l'asque et qui sont par conséquent presque haplobiontiques, et d'autres, comme *T. epiphylla*, où ce phénomène se produit entre les conidies-levures provenant de la germination des ascospores et qui sont donc presque diplobiontiques.

D'autre part, sans admettre la théorie très risquée de LOWHAG, on doit convenir qu'il existe un singulier parallélisme entre le développement des Exoascées et des Levures du genre *Saccharomyces* et celui des Ustilaginales, et cela suggère également un rapprochement beaucoup plus lointain, entre ces Champignons et les Exoascées.

On sait, d'après RAWITSCHER et KNIEP (voir KNIEP [15], que dans *Ustilago violacea*, *Tilletia* et *Urocystis*, on observe un développement très comparable à celui de *Taphrina epiphylla*. La chlamydospore à noyau diploïde de ces Champignons est le siège de la réduction chromatique et de la ségrégation des sexes : elle donne en germant un promycélium à noyaux haploïdes et des sexes différents qui forment des sporidies + et —. Celles-ci se conjuguent et produisent des zygospores possédant un dicaryon, point de départ d'un mycélium à cellules binucléées aux dépens duquel se produisent

les chlamydospores, siège de la caryogamie. Il y a donc, dans ces Champignons, une alternance de génération avec haplophase très courte, tout-à-fait comparable à celle de *Taphrina epiphylla* et aussi à celle des espèces du genre *Saccharomyces*. Dans *Ustilago carbo*, au contraire, le promycélium quadricellulaire issu de la germination de la chlamydospore ne donne généralement pas de sporidies, d'après RAWITSCHER, et ce sont les quatre cellules haploïdes qui se conjuguent deux à deux pour former deux zygosporos de la germination desquelles prend naissance le mycélium à cellules binucléées : ici, il s'agit donc d'une forme diplobiontique à développement comparable à celui du *Saccharomycodes Ludwigii*. Enfin, d'autres formes, telles *Ust. Maydis*, sont haplobiontiques : chez elles, la conjugaison avec formation du dicaryon semble s'effectuer immédiatement avant la formation de la chlamydospore.

Cela indique évidemment une parenté entre les Exoascées et les Levures d'une part et les Ustilaginales d'autre part, Champignons qui, les uns et les autres, d'ailleurs, peuvent végéter sous forme de levures : mais cette parenté ne peut être considérée évidemment que comme très lointaine, étant donné la différence essentielle qui existe entre l'asque et la probaside (chlamydospore).

Le rapprochement que nous venons de faire entre les espèces du genre *Saccharomyces* et les Exoascées nous permet d'établir un schéma de la phylogénie des Levures plus complet que celui que nous avons donné en 1909, dans lequel les formes à conjugaison entre les ascospores restaient sans liaison avec les autres Ascomycètes.

Actuellement, il est bien établi, à la suite de nos recherches sur les Endomycétacées, confirmées par nos travaux plus récents sur le *Spermophthora Gossypii* [11, n], que les Levures ne peuvent être regardées comme des formes dégradées des Ascomycètes supérieurs, mais constituent, au contraire, des formes primitives d'Ascomycètes. Les Protoascinées comprenant les Endomycétacées et les Saccharomycétacées correspondent donc à un groupe d'Ascomycètes inférieurs opposés aux Ascomycètes supérieurs. Tous les botanistes, à l'exception de BESSEY, se sont ralliés à nos vues (DANGEARD [6, b], Mme GWYNNE-VAUGHAN [12], HARDER [29], ZENDER [34], Mme STELLING-DEKKER [23], etc. C'est ainsi que HARDER divise les Ascomycètes en deux sous-classes : les Protoascomycètes (Endo-

mycétacées et Saccharomycétacées) et les Euascomycètes (Ascomycètes supérieurs). GÄUMANN, de son côté, distingue, comme nous l'avons vu, deux sous-classes d'Ascomycètes, dont l'une celle des Hémiascées (Protoasciniées) comprend les Endomycétales et les Exoascales. DANGEARD groupe les Endomycétacées et les Saccharomycétacées dans les Gamétophorés (Ascomycètes inférieurs) opposées aux Diplogamétés (Ascomycètes supérieurs). Les seuls points restés incertains sont la place des Exoascées et les relations des Levures diplobiontiques (*Saccharomycodes Ludwigii* et *Saccharomyces*) avec les autres Ascomycètes.

Il paraît démontré également que *Dipodascus albidus* doit être considéré comme une forme ancestrale des Protoasciniées et qu'il existe des rapports étroits entre ce Champignon et l'*Endomyces Magnusii*. Ces deux Champignons ont un mycélium à articles poly-énergétiques qui se multiplient par des oïdies également polyénergétiques.

Chez le *Dipodascus*, la sexualité consiste en une hétérogamétangie, c'est-à-dire en la fusion de deux gamétanges de dimensions inégales, à gamètes réduits à l'état d'énergides. Mais tous les noyaux de chaque gamétange dégénèrent sauf un seul, et la caryogamie se produit entre les deux noyaux subsistant, aboutissant à la formation d'une zygospore simple qui germe directement en asque. Ce Champignon qui offre la même forme de sexualité que certaines Péronosporacées nous offre donc un intermédiaire entre les Phycomycètes et les Ascomycètes qui se trouve confirmé par l'existence d'une forme beaucoup plus primitive encore dont nous avons fait connaître le cycle de développement : le *Spermophthora Gossypii*.

Dans l'*Endomyces Magnusii*, la gamétangie est remplacée par la conjugaison hétérogamique de cellules végétatives transformées en gamètes, mais ces gamètes se forment comme il suit : l'extrémité d'un filament donne un renflement femelle qui se sépare par une cloison et renferme de 2 à 4 noyaux, tandis qu'une branche mâle très mince contenant également plusieurs noyaux rejoint le renflement femelle et se soude à lui : un peu avant la résorption de la cloison qui sépare les deux rameaux, le renflement femelle se sépare par une nouvelle cloison en un gamète femelle uninucléé et le rameau mâle délimite également à son extrémité une très petite cellule uninucléée qui est le gamète mâle. La conjugaison s'effectue entre ces

deux gamètes. Mais il semble que les articles plurinucléés et nettement différenciés, aux dépens desquels ces gamètes se sont formés, correspondent à des gamétanges comparables jusqu'à un certain point, à ceux du *Dipodascus* et dont une partie se transformerait en gamète. Il faut donc voir, à notre avis, dans ce mode de sexualité, un intermédiaire entre la gamétangie du *Dipodascus* et la conjugaison des gamètes que l'on observe dans les autres représentants des Endomycétacées.

Dans une forme très voisine de l'*End. Magnusii*, l'*End. decipiens*, le mycélium est constitué de cellules et les oïdies sont uninucléées. L'asque se forme par parthénogénèse aux dépens d'un rameau uninucléé et qu'on doit regarder comme une zygospore parthénogénétique.

On peut passer de là aux *Schizosaccharomyces* qui ont des cellules très comparables aux oïdies des *Endomyces* dont il vient d'être question et une conjugaison isogamique qui s'effectue entre deux cellules isolées. Mme STELLING-DEKKER, s'inspirant de ces vues mises en lumière par nos recherches de 1909, a proposé de réunir l'*Endomyces Magnusii*, l'*Endomyces decipiens* et les *Schizosaccharomyces* dans la sous-famille des Endomycoidées.

Il est facile, d'autre part, de faire dériver l'*Eremascus* du *Dipodascus* par transformations des gamétanges en gamètes et de là, par l'intermédiaire des formes voisines telles que l'*Endomycopsis* (*Endomyces*) *fibuliger* (Linder) DEKKER, dont le mycelium donne non plus des oïdies, mais des conidies-levures, et dont les asques se forment par parthénogénèse, mais après des tentatives d'une conjugaison semblable à celle de l'*Eremascus*, de passer aux genres *Zygosaccharomyces*, *Debaryomyces*, *Nadsonia*, etc... et à des genres tels que *Torulasporea* et *Schwanniomyces* devenus parthénogénétiques, mais manifestant encore des essais infructueux de conjugaison entre les cellules destinées à se transformer en asques. Mme STELLING-DEKKER a créé pour cette série comprenant les *Endomyces* à conidies-levures qu'elle range dans le genre *Endomycopsis* et les Levures dont il vient d'être question la sous-famille des Saccharomycétoïdées, subdivisées en deux tribus les Endomycopsées et les Saccharomycétées.

Il résulte des recherches que nous venons d'exposer que les Levures diplobiontiques (*Saccharomycodes Ludwigii*) et les Levures

à tendances diplobiontiques, c'est-à-dire à phase haploïde très courte (*Saccharomyces*), offrent une parenté non douteuse avec les Exoascées du type *Taphrina epiphylla*, qui autorise à rattacher ces dernières aux Protoascinées. Cependant, les Exoascées ont une diplophase caractérisée par des dicaryons (diplophase dicaryotique) qui les éloigne des autres Protoascinées et les rapproche des Ascomycètes supérieurs. Il semble donc difficile de faire dériver de ces Champignons les Levures diplobiontiques ou à tendance diplobiontique. Il est plus vraisemblable d'admettre que les Exoascées ont avec les Endomycétacées et les Levures une origine commune, constituant, comme ces dernières, un rameau détaché d'une forme voisine de l'*Eremascus*, mais ayant acquis une différenciation plus

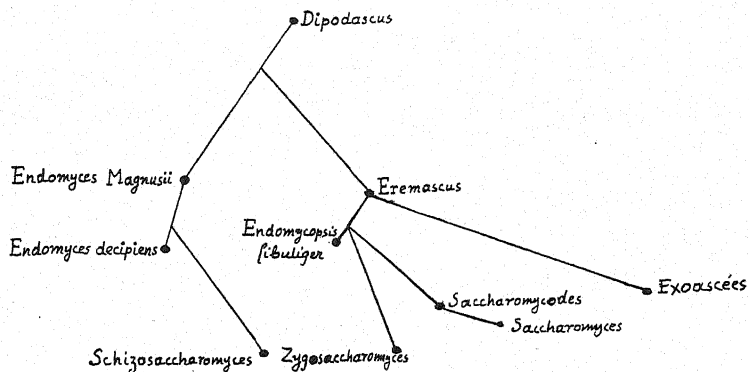


Fig. 9. — Schéma de la phylogénie des Levures.

élevée. Les Levures diplobiontiques ou à tendance diplobiontique peuvent être regardées, au même titre que les autres comme des formes dérivées des Endomycétacées, mais qui auraient subi une évolution analogue à celle de *Taphrina epiphylla* et de *T. Klebanhii*, c'est-à-dire caractérisée par une prédominance de la diplophase et une réduction de l'haplophase. Quant aux Ustilaginales, elles semblent constituer un groupe de Basidiomycètes ayant subi une évolution analogue à celle des Endomycétacées et des Saccharomycétacées et que l'on peut considérer comme ayant une parenté plus ou moins éloignée avec ces Champignons. Le schéma (fig. 9) que nous reproduisons ici explique cette filiation. Il est bien entendu que nous n'attachons qu'une valeur tout à fait relative à ce schéma qui n'a pas la prétention d'expliquer l'évolution des Ascomycètes,

et n'a d'autres raisons d'être que de mettre de l'ordre dans nos idées et d'établir des rapprochements rationnels fondés sur des considérations tirées du cycle de développement de ces Champignons.

Nous avons exposé par ailleurs, nos idées sur la phylogénie des Ascomycètes et les rapports entre les Protoascinées et des Euasco-(Ascomycètes supérieurs) dans notre étude précédente sur le *Spermophthora Gossypii*. Nous renvoyons à ce mémoire [11, n] pour cette question.

CONCLUSIONS

Nos recherches montrent donc qu'au point de vue de la sexualité, il existe trois catégories de Levures : 1° des Levures haplobiontiques (*Zygosaccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Debaryomyces*, *Nadsonia*) dans lesquelles la conjugaison précède la formation de l'asque et qui sont étroitement apparentées aux *Endomycétacées* ; 2° des Levures diplobiontiques (*Saccharomyces*), chez lesquelles la conjugaison a lieu régulièrement entre les ascospores ; 3° des levures auxquelles semblent se rattacher presque tous les *Saccharomyces*, sinon tous, qui occupent une place intermédiaire entre ces deux catégories précédentes et chez lesquelles la conjugaison s'opère parfois entre les ascospores elles-mêmes, mais le plus souvent entre les cellules haploïdes issues des premiers bourgeoissements des ascospores. Ces dernières, présentant une alternance de génération à phase haploïde très courte et phase diploïde prédominante, semblent, comme les Levures diplobiontiques, avoir des affinités avec les Exoascées du type *Taphrina epiphylla*. Il semble désormais que ce dernier mode de sexualité et de développement doive rentrer dans la diagnose du genre *Saccharomyces* et, en tous cas, il devient impossible de grouper, comme l'a fait Mme STELLING-DEKKER, dans un même genre, les *Zygosaccharomyces* et les *Saccharomyces* considérés comme deux sous-genres du genre *Saccharomyces*.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE XVIII

Saccharomyces paradoxus

- Fig. A. — 1 à 4. Asque à 4 ascospores, placé en gouttelette pendante, le 17 novembre à 19 heures, et diverses phases de la germination de ses ascospores ; celles-ci se sont conjuguées directement : 1, 18 novembre, 9 heures ; 2, 12 heures ; 4, 2 heures.
- Fig. B. — Asque à 2 ascospores, placé sur gouttelette pendante le 17 novembre à 19 heures : 1, le 18 novembre à 9 heures : les ascospores sont en voie de conjugaison ; 11 heures, la zygospore a donné 2 bourgeons.
- Fig. C. — 1, Asque à 3 ascospores, ensemencé le 29 novembre à 19 heures ; 2, 30 novembre, 9 heures ; 3, 11 heures : deux ascospores se sont fusionnées, les deux autres sont en voie de bourgeonner. 4, 12 heures.
- Fig. D. — 1, Asque à 2 ascospores, ensemencé le 26 novembre, 19 heures et observée le 27 novembre à 11 heures : les deux ascospores ont donné des cellules haploïdes ; 2, les ascospores se sont conjuguées.
- Fig. E. — 1, Asque à 4 ascospores ensemencé le 29 novembre à 19 heures ; 2, 30 novembre, 9 heures ; deux ascospores se sont conjuguées, les autres sont en voie de se conjuguer.
- Fig. F. — 1, Asque à 4 ascospores, ensemencé le 29 novembre, 19 heures ; 2, 30 novembre, 9 heures ; deux des ascospores se sont conjuguées.
- Fig. G. — 1, Asque à 3 ascospores, ensemencé le 26 novembre (19 heures) : 2, 27 novembre, 9 heures : une ascospore seule a germé et donné une cellule haploïde 1 ; 3, 12 heures, l'ascospore s'est conjuguée avec l'autre et la cellule haploïde 1 a formé une autre cellule haploïde 2.

PLANCHE XIX

Saccharomyces paradoxus.

- Fig. A. — 1, Asque à 2 ascospores, dont l'une plus gonflée, celle du haut, a déjà donné un bourgeon 1 (Culture sur cellule VAN TIEGHEM et LE MONNIER, faite le 28 janvier à 18 heures et observée le 29 janvier, 10 heures) : 2, 29 janvier, 12 heures, la même ascospore a donné 2 autres cellules haploïdes 2 et 3 ; 3, 14 heures : les cellules haploïdes 1 et 2 se sont conjuguées ; 4, 3 heures, l'ascospore a donné une nouvelle cellule haploïde 4 et la zygospore a produit un premier bourgeon diploïde *a* ; 5, 16 heures ; 6, 17 heures : une seconde cellule diploïde *b* s'est formée par bourgeonnement de la cellule *a* et la zygospore a donné une seconde cellule diploïde *c* ; 7, 19 heures : les deux ascospores se sont conjuguées et ont formé une seconde zygospore.

Fig. B. — 1, Asque à deux ascospores, ensemencé le 19 novembre, 19 heures ; 2, 20 novembre, 9 heures : les deux ascospores ont formés chacune une cellule haploïde 1 ; 3, midi, l'une des cellules haploïdes issue du bourgeonnement de l'ascospore a donné une seconde cellule haploïde 2 ; 4, 14 heures : les deux ascospores se sont conjuguées et une seconde zygosporé s'est formée par conjugaison des deux cellules haploïdes 1, issues de la germination des deux ascospores. Chacune des zygosporés a formé une cellule diploïde *a*. 5, 14 heures 30 ; 6, 15 heures ; 7, 15 heures 30 : de nouvelles cellules diploïdes *b* et *c* se sont formées ; 8, 17 heures : de nouvelles cellules diploïdes *e* et *d* se sont formées.

Fig. C. — 1, Asque à 3 ascospores, ensemencé le 3 décembre, 19 heures : 2, 4 décembre, 9 heures : deux des ascospores ont formé chacune une cellule haploïde 1 ; 3, 15 heures : la troisième ascospore a formé une cellule haploïde 1 ; 4, 16 heures : les cellules haploïdes 2 se sont formées aux dépens des ascospores du haut et de gauche ; 5, 18 heures, l'une des ascospores s'est conjuguée avec la cellule haploïde 1, issue de sa germination et de nouvelles cellules haploïdes, 3 et 4, se sont formées à partir de l'ascospore de droite ; 6, 19 heures : la zygosporé a donné une cellule diploïde *a*.

PLANCHE XX

Saccharomyces paradoxus

Fig. A. — 1, Asque à deux ascospores, ensemencé le 28 novembre, 19 heures : et observé le 29 novembre, 9 heures : l'ascospore de droite a fourni 3 cellules haploïdes 1, 2 et 3 ; 2, 11 heures : une nouvelle cellule haploïde 4 s'est formée ; 3, 12 heures : les deux cellules 3 et 1 se sont conjuguées ; l'ascospore de gauche a formé un premier bourgeon 1 et la cellule haploïde 5 est née du bourgeonnement de la cellule 2 ; 4, 14 heures : la zygosporé a fourni une cellule diploïde *a* ; 5, 18 heures : la zygosporé a formé une nouvelle cellule diploïde *b* ; les cellules haploïdes 6 et 7 résultent du bourgeonnement de l'ascospore de droite ; 6, 19 heures.

Fig. B. — Asque à deux ascospores ensemencé le 26 novembre, 18 h. ; 1, 27 novembre, 9 heures : chacune des ascospores a donné trois cellules haploïdes 1, 2 et 3 ; 2, 11 heures : une zygosporé s'est formée par conjugaison des deux cellules haploïdes 3 et 1, formées par l'asque de gauche ; 3, 14 heures : la zygosporé a formé une cellule diploïde *a* ; 4, 15 heures, deux autres cellules diploïdes *b*, *c*, se sont formées ; une nouvelle zygosporé s'est formée par conjugaison des deux cellules haploïdes 1 et 3, issues du bourgeonnement de l'ascospore de droite et une troisième zygosporé s'est formée par conjugaison de l'ascospore de gauche avec la cellule haploïde 2 issue de son bourgeonnement ; 5, 16 heures : deux des zygosporés, les dernières formées, ont donné les cellules diploïdes *a* ; 6, 18 heures : la zygosporé de droite a donné deux nouvelles cellules diploïdes *b*, *c*.

Fig. C. — Asque à 2 ascospores, ensemencé le 26 novembre, 19 heures. 1, 27 novembre, 14 heures : l'une des ascospores a donné une cellule haploïde 1, l'autre une cellule haploïde 1 qui a donné naissance à une autre cellule 2 ; 2, 17 heures : la cellule 1 issue du bourgeonnement de l'ascospore du bas a fourni les deux autres cellules haploïdes 3 et 4, puis les deux ascospores se sont conjuguées.

Fig. D. — Asque à deux ascospores ensemencés le 26 novembre, 19 heures : 1, 27 novembre, 9 heures : l'ascospore du haut a fourni une cellule haploïde 1 ; 2, 14 heures, les deux ascospores se sont conjuguées et la zygosporé a donné une cellule diploïde *a*.

Fig. E. — Asque à deux ascospores ensemencé le 26 novembre, 19 heures : 1, 27 novembre, 9 heures : l'ascospore du haut a donné une cellule haploïde 1 ; 2, 14 heures : les ascospores se sont conjuguées.

PLANCHE XXI

Saccharomyces paradoxus.

Fig. A. — 1, Asque à deux ascospores ensemencé le 19 novembre, 19 heures ; 2, 20 novembre, 9 heures : l'ascospore de gauche a donné les 3 cellules haploïdes 1, 2 et 3, celle de droite la cellule 1 ; 3, 10 heures ; 4, 12 heures : l'ascospore de droite a fourni deux nouvelles cellules haploïdes 2 et 3 et une zygospore a pris naissance par fusion des deux cellules haploïdes 1 et 2, issues du bourgeonnement de l'ascospore de gauche ; 5, 14 heures : l'ascospore de gauche s'est conjuguée avec la cellule haploïde 3 issue de son bourgeonnement ; 6, 15 heures : l'une des zygosporas a donné la cellule diploïde *a* ; 7, 18 heures : une troisième zygospore s'est formée par conjugaison de l'ascospore de droite avec la cellule haploïde 1 issue de son bourgeonnement ; 8, 19 heures : les deux zygosporas de gauche ont donné les cellules diploïdes *a*, *b*, *c*. La zygospore de droite a fourni la cellule diploïde *a*. La cellule haploïde 2 dérivée de l'ascospore de droite a donné une autre cellule haploïde 4.

Fig. B. — 1, Asque à 3 ascospores, ensemencé le 27 novembre à 19 heures ; 2, 28 novembre, 9 heures ; 3, 14 heures : l'ascospore du haut a fourni les 2 cellules haploïdes 1 et 2 et la cellule haploïde 1 a donné par bourgeonnement la cellule 3 ; 4, 12 heures : l'ascospore du haut a formé une nouvelle cellule haploïde 4 et de l'ascospore de droite en bas sont nées les cellules haploïdes 1, 2 et 3 ; 5, 15 heures : les cellules haploïdes 1 et 2 issues du bourgeonnement de l'ascospore du haut se sont conjuguées ; l'ascospore du bas à droite a donné la cellule haploïde 4 ; 6, 16 heures : l'ascospore du haut s'est conjuguée avec la cellule 4 issue de son bourgeonnement ; la cellule haploïde 3 provenant du bourgeonnement de l'ascospore de droite en bas a donné une nouvelle cellule haploïde 5 ; 7, 19 heures : la zygospore du haut a donné les cellules diploïdes *a*, *b*, *c* ; une nouvelle zygospore s'est formée par conjugaison des cellules haploïdes 1 et 3 issues du bourgeonnement de l'ascospore du bas à droite.

Fig. C. — 1, Asque à deux ascospores ensemencé le 18 novembre, 19 heures ; 2, 19 novembre, 9 heures : l'ascospore du haut a donné une cellule haploïde 1 ; 3, 10 heures ; 4, 11 heures : une seconde cellule haploïde 2 s'est formée par bourgeonnement de la première cellule issue de l'ascospore du haut ; 5, 12 heures : l'ascospore du bas a donné une cellule haploïde 1 ; 6, 14 heures : les deux ascospores se sont conjuguées.

PLANCHE XXII

Saccharomyces paradoxus.

Fig. A. — 1, Asque à deux ascospores ensemencé le 18 novembre à 19 heures ; 2, 19 novembre, 9 heures : l'ascospore de gauche a donné une cellule haploïde 1 ; 3, 10 heures ; l'ascospore de droite a formé une cellule haploïde 1 ; 4, midi ; 5, 14 heures : l'ascospore de gauche a donné deux nouvelles cellules haploïdes 2 et 3 ; 6, 15 heures, l'ascospore de droite a fourni les deux cellules haploïdes 2 et 3 ; la cellule haploïde 1 formée par l'ascospore de gauche a donné la cellule 4 ; 7, 16 heures : l'ascospore de gauche s'est conjugué avec la cellule haploïde 1, formée par l'ascospore de droite et les cellules haploïdes 2 et 3 formées par l'ascospore de droite ont produit une autre zygospore ; 8, 17 heures : les cellules haploïdes 2 et 3 issues du bourgeonnement de l'ascospore de gauche se sont conjuguées.

- Fig. B. — 1, Asque à 2 ascospores ensemencé le 26 novembre et observé, 27 novembre, 9 heures : de l'ascospore de gauche se sont formés les 3 cellules haploïdes 1, 2 et 3 ; l'ascospore de gauche a donné les deux cellules haploïdes 1 et 2 ; 2, 14 heures : l'ascospore de gauche a donné les cellules haploïdes 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 8, celle de droite les cellules haploïdes 1, 2, 3 et 4. On voit les fragments de la paroi de l'asque gélatinée. 3, 15 heures : les cellules haploïdes 4 et 5 formées par bourgeonnement de l'ascospore de gauche se sont conjuguées.
- Fig. C. — Asque à deux ascospores ensemencé le 26 novembre, 19 heures. 1, 27 novembre, 9 heures : l'ascospore du haut a donné la cellule haploïde 1 et l'ascospore du bas les cellules haploïdes 1 et 2 ; 2, 14 heures, les deux ascospores se sont conjuguées.
- Fig. D. — Asque à 2 ascospores ensemencé le 26 novembre, 19 heures ; 1, 27 novembre, 9 heures : l'ascospore du haut a donné les deux cellules haploïdes 1 et 2 ; 2, 14 heures : l'ascospore du haut s'est conjuguée avec la cellule haploïde 1, issue de son bourgeonnement, et la zygospore forme la cellule diploïde a ; l'ascospore du bas donne une première cellule haploïde 1.
- Fig. E. — Asque à deux ascospores ensemencé le 26 nov. 19 h. ; 1, 27 novembre, 9 heures : l'ascospore du haut a donné une cellule haploïde 1 ; 2, midi : les deux ascospores se sont conjuguées.
- Fig. F. — Asque à 2 ascospores ensemencé le 28 novembre, 19 heures ; 1, 29 novembre, 9 heures : l'ascospore du haut a fourni la cellule haploïde 1 ; 2, midi ; une zygospore s'est formée par conjugaison des deux ascospores et a produit la cellule diploïde a .

PLANCHE XXIII

Saccharomyces paradoxus.

- Fig. A. — 1, Asque à 3 ascospores ensemencé le 3 décembre : 2, 4 décembre, 9 heures : 2 ascospores ont formé chacune une cellule haploïde 1 ; 3, 15 heures : la troisième ascospore a formé une cellule haploïde 1 ; 4, 16 heures : l'ascospore du haut a fourni une seconde cellule haploïde 2 et l'ascospore de droite également ; 5, 17 heures : une zygospore s'est formée par conjugaison de l'une des ascospores, celle du bas à gauche, avec la cellule haploïde 1 issue de son bourgeonnement ; 6, 18 heures : la zygospore a formé une cellule diploïde a .
- Fig. B. — Asque à 3 ascospores ensemencé le 3 décembre : 1, 4 décembre, 9 h. : les deux ascospores du bas se sont conjuguées ; 2, 12 heures : la zygospore a fourni une cellule diploïde a ; 3, 14 heures ; 4, 15 heures : une seconde cellule diploïde b se forme ; 5, 10 heures : les deux ascospores du haut ont fourni l'une les cellules haploïdes 1, 2, 3, l'autre la cellules 1 ; la zygospore a donné les cellules diploïdes a, b, c, d, e ; 6, 19 heures : une zygospore s'est formée par conjugaison de la cellule 2 issue du bourgeonnement de l'ascospore de gauche avec la cellule 1 issue du bourgeonnement de l'ascospore de droite.
- Fig. C. — 1, Asque à 2 ascospores, ensemencé le 27 janvier à 19 heures, observé le 28 janvier à 8 heures. 2, 12 heures : l'ascospore de droite a donné 3 cellules haploïdes 1, 2 et 3, celle de gauche 2 cellules haploïdes, 1 et 2 ; 3, 14 heures ; 4, 15 heures : l'ascospore du haut s'est conjuguée avec la cellule haploïde 1 issue de son bourgeonnement.
- Fig. D. — 1, Asque à 3 ascospores, ensemencé le 27 janvier à 19 heures, observé le 28 janvier à 9 heures ; 2, midi : l'ascospore du haut a donné une cellule haploïde 1 ; de celle de gauche se sont formées les cellules haploïdes 1, 2 et 3 ; celle de droite n'a fourni aucune cellule ; 3, 14 heures : l'ascospore du haut s'est conjuguée avec la cellule haploïde 1 issue de son bourgeonnement et celle de gauche avec la cellule 2 issue de son bourgeonnement.

PLANCHE XXIV

Saccharomyces paradoxus

- Fig. A. — 1, Asque à 3 ascospores ensemencé le 29 novembre, 19 heures ; 2, 30 novembre, 9 heures ; 3, 10 heures : deux des ascospores se sont fusionnées ; 4, 14 heures : la zygospore a formé la cellule diploïde *a*.
- Fig. B. — Asque à 4 ascospores ensemencé le 17 novembre 19 heures ; 1, 18 novembre ; 2 heures : 2 ascospores se sont conjuguées.
- Fig. C. — 1, Asque à 3 ascospores ensemencé le 17 novembre, 19 heures ; 2, 18 novembre, 14 heures : 2 ascospores se sont conjuguées ; 3, 19 heures : l'ascospore isolée a donné une cellule haploïde et la zygospore a formé sa première cellule diploïde.
- Fig. D. — 1, Asque à deux ascospores ensemencé le 17 novembre à 19 heures ; 2, 8 novembre, 10 heures ; 3, 11 heures : l'ascospore de gauche a donné la cellule haploïde 1 ; 4, midi ; 5, 14 heures : la cellule haploïde fournie par l'une des ascospores s'est conjuguée avec celle-ci.
- Fig. E. — 1, Asque à 3 ascospores ensemencé le 18 novembre, 19 heures ; 2, 19 novembre, 9 heures ; deux des ascospores ont formé par leur fusion une zygospore qui a donné la première cellule diploïde ; 3, 10 heures ; 4, midi.
- Fig. F. — Asque à 4 ascospores ensemencé le 3 décembre, 19 heures ; 1, 4 décembre 9 h. ; 2, 16 heures : l'ascospore du haut à gauche a donné une cellule haploïde 1 ; 3, 19 heures : les deux ascospores du bas se sont conjuguées.

PLANCHE XXV

Saccharomyces-paradoxus.

- Fig. A. — 1, Quatre asques ensemencés le 29 janvier sur une cellule de VAN TIEGHEM et LE MONNIER : l'un avait 4 ascospores, l'autre 3, le quatrième 4, et le cinquième 2. Ces asques observés le 30 janvier à 9 heures montrent leurs ascospores fortement gonflées, et l'un d'eux, celui du haut, à 3 ascospores, montre déjà une cellule haploïde 1, formé par bourgeonnement de l'une des ascospores. 2, 11 heures, l'une des ascospores de l'asque du bas a donné une cellule haploïde 1 ; 3, 12 heures, l'une des ascospores de l'asque du bas s'est conjuguée avec l'une des ascospores de l'asque à deux ascospores de droite ; 4, 14 heures : 4 cellules haploïdes 1, 2, 3, 4, se sont formées à partir de l'une des ascospores de l'asque du haut, une seule, cellule haploïde 1 est née de l'ascospore de droite ; deux des ascospores de l'asque de gauche se sont conjuguées et ont formé une zygospore qui a donné la cellule diploïde *a* ; les deux autres ascospores ne germent pas ; l'une des ascospores de l'asque de bas a formé les cellules haploïdes 1 et 2 et la zygospore provenant de la fusion de deux ascospores appartenant à deux asques différents a donné la cellule diploïde *a* ; 5, 15 heures : deux nouvelles zygospores se sont formées, l'une en haut provenant de la conjugaison des cellules 1 et 4 issues de la germination de l'une des ascospores de l'asque à 3 ascospores du haut, l'autre par conjugaison de deux des ascospores de l'asque à 4 ascospores du bas ; 6 et 7 : les zygospores commencent à donner naissance à des cellules diploïdes (*a*, *b*, *c*).
- Fig. B. — 1, Asque à deux ascospores ensemencé le 28 janvier à 19 heures et observé le 29 janvier à 10 heures ; l'une des ascospores a formé la cellule haploïde 1 ; 2, 11 heures ; 3, 12 heures : la cellule haploïde 2 est en voie de formation ; 4, 14 heures : l'ascospore du bas a formé la cellule haploïde 3 et la cellule haploïde 1 est en voie de donner la cellule haploïde 4 ; 5, 15 heures ; 6, 16 heures : les cellules 2 et 3 se sont conjuguées.

Fig. C. — 1, Asque à 2 ascospores ensemencé le 28 janvier, à 19 heures et observé le 29 à 9 heures ; 2, 10 heures : chacune des ascospores a formé une cellule haploïde 1 ; 3, 14 heures : l'ascospore du bas a donné une seconde cellule haploïde 2 ; 4, 15 heures : les deux premières cellules 1 formées par bourgeonnement des 2 ascospores se sont conjuguées ; 5, 16 heures : la zygosporé commence à former un bourgeon diploïde *a*.

PLANCHE XXVI

Saccharomyces paradoxus.

Fig. 9. — 1, Asque à deux ascospores ensemencé le 20 novembre à 19 heures et observé le 21 à 9 heures : l'ascospore du haut a formé les cellules haploïdes 1, 2, 3 et 4, celle du bas, les cellules haploïdes 1, 2, 3 et 4 ; 2, 12 heures : une zygosporé s'est formée par conjugaison des cellules haploïdes 2 et 3 issues de l'ascospore du haut et a déjà donné une cellule diploïde *a*. L'ascospore du bas a donné 10 cellules haploïdes. 3, 14 heures : la zygosporé formée par les cellules haploïdes 2 et 3 provenant du bourgeonnement de l'ascospore du haut a donné les 3 cellules diploïdes *a*, *b* et *c*. Une seconde zygosporé s'est formée par conjugaison des cellules haploïdes 2 et 5 issues du bourgeonnement de l'ascospore du bas et a donné des cellules diploïdes *a*, *b* et *c* ; 4, 15 heures : deux nouvelles zygosporés se sont formées : l'une par conjugaison des cellules haploïdes 1 et 4 issues de l'ascospore du bas, l'autre par conjugaison des cellules 3 et 11 provenant du bourgeonnement de la même ascospore. — 5, 18 heures : une cinquième zygosporé s'est formée par conjugaison des cellules 8 et 9 issues du bourgeonnement de l'ascospore du bas.

Fig. B. — 1, Asque à deux ascospores ensemencé le 29 janvier à 19 heures et observé le 30 à 9 heures ; 2, 10 heures : l'une des ascospores a fourni deux cellules haploïdes 1 et 2 ; 3, 12 heures : la même ascospore a donné une troisième cellule haploïde 3 ; 4, 14 heures : la cellule 1 issue du bourgeonnement de l'ascospore de gauche a donné la cellule haploïde 4 ; 5, 15 heures : deux zygosporés se sont formées : l'une provient de la conjugaison des cellules haploïdes 1 et 3, l'autre de la conjugaison de la cellule 2 avec l'ascospore qui lui a donné naissance ; la seconde ascospore n'a pas germé.

PLANCHE XXVII

Saccharomyces paradoxus

Fig. A. — 1, Asque à quatre ascospores ensemencé le 27 janvier à 19 heures et observé le 28 janvier à 9 heures ; 2, 12 heures : l'une des ascospores a donné une première cellule haploïde 1 ; 3, 14 heures : une autre ascospore située au-dessus de la précédente a formé la cellule haploïde 1 ; 4, 15 heures ; 5, 16 heures : les deux cellules haploïdes 1 formées par les deux ascospores voisines se sont conjuguées ; 6, 17 heures : les trois ascospores subsistant se sont séparées après gélicification de la paroi de l'asque ; 7, 18 heures : la zygosporé commence à bourgeonner : elle a formé le bourgeon diploïde *a* ; 8, 19 heures : *idem*.

Fig. B. — 1, Asque à deux ascospores ensemencé le 27 janvier à 19 heures et observé le 28 janvier à 9 heures ; 2, 10 heures : l'ascospore de droite a donné une première cellule haploïde 1 ; 3, 11 heures ; 4, 12 heures : la même ascospore a formé une seconde cellule haploïde 2 ; 5, 14 heures ; 6, 15 heures : la même ascospore donne une troisième cellule haploïde 3 ; 7, 16 heures : une zygosporé s'est formée par conjugaison de la cellule haploïde 1 avec l'ascospore dont elle dérive.

- Fig. C. — 1, Asque à deux ascospores ensemencé le 28 janvier à 19 heures et observé le 29 à 9 heures. Les deux ascospores ont formé une première cellule haploïde 1 ; 2, 14 heures : une seconde cellule haploïde 2 s'est formée par bourgeonnement de l'ascospore de gauche ; la cellule haploïde 1 issue du bourgeonnement de l'ascospore de droite a formé un bourgeon 2 ; 3, 15 heures : de chacune des ascospores dérivent les cellules haploïdes 1, 2 et 3 ; 4, 16 heures : deux zygosporos se sont formées, l'une par conjugaison des cellules 1 et 2 issues du bourgeonnement de l'ascospore de gauche, l'autre par conjugaison de cette ascospore avec la troisième cellule 3, produite par elle ; cette dernière a formé une première cellule diploïde *a* ; 5, 16 heures : la seconde zygosporos a formé sa première cellule diploïde *a* ; de l'ascospore de gauche dérivent les cellules haploïdes 1, 2, 3, 4, 5 et 6 ; 6, 18 heures : l'une des zygosporos a donné une seconde cellule diploïde *b* ; 7, 19 heures : une troisième zygosporos s'est formée par conjugaison des cellules haploïdes 1 et 4 issues du bourgeonnement de l'ascospore de gauche.
- Fig. D. — 1, Asque à trois ascospores, ensemencé le 28 janvier à 19 heures et observé le 29 janvier à 9 heures. L'une des ascospores a fourni une première cellule haploïde 1 ; 2, 12 heures : l'ascospore du bas a donné une première cellule haploïde 1 ; 3, 14 heures : l'ascospore du haut a donné une seconde cellule haploïde 2 ; 4, 15 heures ; 5, 16 heures : l'ascospore du bas a donné une deuxième cellule haploïde 2 ; 6, 17 heures : la cellule haploïde 1 formée par l'ascospore du bas s'est conjuguée avec l'ascospore du haut ; l'une des ascospores n'a pas germé.

PLANCHE XXVIII

Conjugaison et caryogamie dans *Saccharomyces paradoxus* (fixation au liquide de Bouin et coloration à l'hématoxyline ferrique et à l'érythrosine). (Grossissement environ 1.000).

- Fig. 1 à 4. — Les deux gamètes sont réunis par un canal au milieu duquel la cloison qui les sépare n'est pas encore résorbée.
- Fig. 5 à 12. — La cloison séparatrice s'est résorbée, mais les noyaux ne se sont pas fusionnés.
- Fig. 13 à 17. — Stade de la caryogamie.
- Fig. 18 à 33. — La caryogamie est effectuée.
- Fig. 34 à 43. — Début du bourgeonnement de la zygosporos ; le noyau n'est pas encore en voie de division.
- Fig. 44 à 46. — Le noyau est en voie de division.
- Fig. 48 et 49. — La division nucléaire est achevée et le bourgeon est séparé de la zygosporos.
- Fig. 50 à 58. — Diverses zygosporos dans lesquelles la formation du premier bourgeon a commencé avant la caryogamie ou au moment où les deux noyaux sont en voie de fusion (51, 54, 55, 56).
- Fig. 59. — Zygosporos dans laquelle les deux noyaux ne s'étant pas fusionnés se divisent simultanément.

PLANCHE XXIX

Germination des zygosporos dans la Levure de Johannisberg II (fixation au liquide de Pérenyi et coloration à l'hématoxyline ferrique) (d'après des préparations datant de 1904) (Grossissement environ 2.000).

- Fig. 1 à 8. — Début de la formation du premier bourgeon de l'ascospore et stades de division du noyau.
- Fig. 9 et 10. — Caryogamie ne s'opérant que pendant la formation du premier bourgeon.
- Fig. 11 à 21. — Zygosporos dans lesquelles les deux noyaux ne sont pas encore fusionnés pendant la formation du premier bourgeon.
- Fig. 22 à 33. — Zygosporos dans lesquelles les deux noyaux restés distincts se divisent simultanément par une sorte de division conjuguée pendant la formation du premier bourgeon.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. — BARKER (B.T.P.). — A conjugating Yeast. *Philos. transact. of the Royal Soc. London*. T. 68. 1901.
2. — BATSCINSKAIA. — *Saccharomyces paradoxus*. Nouvelle espèce de Levure, son développement et sa culture pure. *Journ. de micrographie*. Pétrougrade. T. I. 1912.
3. — BESSEY (E.-A.). — A Text-Book of Mycology. *Blakiston, éd. Philadelphia*. 1935.
4. — BONNIER (G.) et LECLERC DU SABLON. — Cours de Botanique. *Librairie générale de l'Enseignement*.
5. — CAPITAIN (E.). — Contribution à l'étude morphologique et physiologique des Levures de poires. *Thèse de Doctorat ès-Sciences*. Lyon. 1930.
6. — DANGEARD (P.A.). — a) La sexualité des Ascomycètes. *Le Botaniste*. 4^e série. 1894.
b) Recherches sur le développement du périthèce. *Le Botaniste*. 10^e série. 1907.
7. — EFTIMIU (P.). — Contribution à l'étude cytologique des Exoascées. *Thèse de Doctorat ès sciences*. Paris. 1927.
8. — ENGLER et PRANTL. — Die Natürlichen Pflanzen-familien. 1^{re} Partie. 1897.
9. — FUHRMANN (F.). — Die Kernteilung von *Saccharomyces ellipsoideus* I. Hansen, bei Sprossbildung. *Cent. f. Bak.* II. T. 15, 1906.
10. — GÄUMANN (E.). — Vergleichende Morphologie der Pilze. *G. Fischer*. Iéna. 1926.
11. — GUILLIERMOND (A.). — a) Recherches histologiques sur la sporulation des Schizosaccharomycètes. *C.R.Ac.Sc.* T. CXXXIII. 1901.
b) Considérations sur la sexualité de certaines Levures. *C.R. Ac. Sc.* T. CXXXIII. 1901.
c) Recherches cytologiques sur les Levures. *Thèse de Doctorat ès sciences*, Sorbonne. 1902 et *Rev. gén. Bot.* T. XVI. 1903.
d) Recherches sur la germination des spores dans le *Saccharomyces Ludwigii*. *Bull. Soc. Mycol. France*. T. XIX. 1903.

- e) Recherches sur la germination des spores et la conjugaison chez les Levures. *Rev. gén. Bot.*, T. XVII. 1905.
 - f) Recherches cytologiques et taxinomiques sur les Endomycétacées. *Rev. gén. Bot.*, T. XXI. 1909.
 - g) Remarques critiques sur différentes publications parues récemment sur la cytologie des Levures et quelques observations nouvelles sur la structure de ces Champignons. *Centr. f. Bakter.*, II. T. 26. 1911, p. 577.
 - h) Sur une Levure à copulation hétérogamique. *C.R. Soc. Biol.* T. LXX, 1911.
 - i) Nouvelles observations sur la sexualité des Levures. *Arch. f. Protistenkunde.* T. XXVIII. 1912.
 - j) Monographie des Levures rapportées d'Afrique occidentale par la mission A. Chevalier. *Ann. Sc. nat. Bot.* T. 19. 1914.
 - k) Levaduras del Pulqua. *Bol. d. l. Dir. de Estudios Biologicos.* T. 2, Mexico. 1917.
 - l) Sur la division nucléaire des Levures. *Ann. Institut Pasteur.* T. XXXI. 1917.
 - m) The Yeasts. *Blakiston.* New-York. 1920.
 - n) Recherches sur quelques Ascomycètes inférieurs isolés de la stigmatomycose des graines de Cotonnier. Essais sur la phylogénie des Ascomycètes. *Rev. gén. Bot.*, T. XL. 1928.
 - o) Recherches sur l'homothallisme chez les Levures. *Rev. gén. Bot.*, T. 43. 1931.
 - p) Sur le genre *Zygosaccharomyces*, nouvellement créé par M. Nishiwaki et sur quelques points obscurs du développement des Levures. *Travaux dédiés à L. Mangin.* 1931. p. 25.
12. — GWYNNE-VAUGHAM (Mme H.) — Fungi : Ascomycetes, Ustilaginales, Uredinales. *Cambridge. At the University Press.* 1922).
 13. — HANSEN (E.-Chr.). La spore devenue sporange. *C. R. Lab. Carlsberg*, T. V. 1902.
 14. — JUEL. — Cytologischen Piltzestudien zur Kenntniss einiger Hemiasceen. *Nova Acta Regia Scient.* Upsala. 1931.
 15. — KNIEP (H.). — Die Sexualität der niederen Pflanzen. *G. Fischer.* Iéna. 1928.
 16. — KRUIS (K.) et SATAVA (T.). — O vyvji a Kliecni spor jockoz i sexualité Kvasinek. *V. Praze.* 1918.
 17. — LOTSY (J.P.). — Vorträge über botanische Stammesgeschichte. *G. Fischer.* Iéna. 1907. T. I.
 18. — LOWHAG. — Rapporté par Bessey. *Text-Book of Mycology.* 1935.
 19. — MARCHAND (H.). — La conjugaison des spores chez les Levures. *Rev. gén. Bot.*, T. 25. 1913.

20. — MARTIN (E.M.). — Cytological studies of *Taphrina Coryli* Nishida on *Coryla americana*. *Wisconsin Acad. of Sc. Arts, Letters*. T. II. 1924.
Cultural and morphological studies of some species of *Taphrina*. *Phytopathology*. T. 15. 1925.
21. — MC KÄTER (J.A.). — Cytology of *Saccharomyces Cerevisiae* with special reference to nuclear division. *Biol. Bull. Woods Hole*. T. 49. 1927.
22. — NADSON et KONOKOTINE. — Guilliermondia. Un nouveau genre de la famille des Sacchanomycétacées à copulation hétérogamique. *Bull. Jard. bot. St-Petersbourg*. T. XI. 1911. Etude cytologique sur les Levures à copulation hétérogamique du genre *Nadsonia*. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, T. VIII. 1926.
23. — NADSON et KRASSILNIKOW. — Sur la réversibilité du développement chez la Levure *Saccharomyces paradoxus*. *C.R. Soc. Biol.* 1925.
24. — NEGRONI (P.). — Sur une nouvelle espèce de *Saccharomyces*: *Saccharomyces annulatus*. *Arch. de Parasitologie*. T. VII. 1929.
25. — PLANTEFOL (L.). — Cours de Botanique et de Biologie végétale. T. II. *Belin, éd.* Paris. 1931.
26. — RENAUD (J.). — Etude des races de Levures dans les vins de Pouilly-sur-Loire (Nièvre). *Rev. gén. Bot.*, T. 47. 1935.
27. — SATAVA (J.). — O redukovaných formách Kvasinek. V. *Praze*. 1918. Les formes sexuelles et asexuelles des Levures et leur pouvoir fermentatif. III^e Congrès des Techniques agricoles. Paris. 1934.
28. — STELLING-DEKKER (N.M.). — Die Hefesammlung des « Centraal-Bureau voor Schimmelcultures ». *Verhand. der Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam*. 1931. T. XXVIII.
29. — STRASBURGER (E.), FITTING (H.), SIERP (H.), HARDER (R.), KARSTEN (G.). — Lehrbuch der Botanik. G. Fischer. 1931.
30. — SWELLENGREBEL (M.). — Sur la division nucléaire de la Levure pressée. *Ann. Institut Pasteur*. T. 19. 1905.
31. — VAN TIEGHEM et COSTANTIN. — Eléments de Botanique. *Masson éd.* 1918.
32. — WIEBEN (M.). — Die Infektion, die Mycelüberwinterung und Kopulation bei Exoasceen. *Forschungen a. d. Geb. d. Pflanzenkrankh. herausgeg. v. Schaffnit*. Iéna. 3. 1927.
33. — WINGE (O.). — On haplophase and diplophase in some *Saccharomycetes*. *C.R. Tr. Lab. Carlsberg. Série physiologique*. T. 21. 1935.
34. — ZENDER (J.). — Sur la classification des Endomycétacées. *Université de Genève. Inst. de Bot., 10^e série. Fasc. XII*. 1925.

RÉACTIONS DES FRUITS AUX BLESSURES EXPÉRIMENTALES

par M. Roger ULRICH

(Suite.)

B. — *Différenciation des cellules ligno-subéreuses.*

Examinons une coupe pratiquée au voisinage d'une blessure datant d'un ou deux jours. Tandis qu'à la surface de la lésion se trouvent des cellules déformées manifestement mortes, on passe en profondeur à des éléments d'apparence presque normale mais incolores vitalement. Plus loin encore, on arrive au parenchyme normal où la grande vacuole de chaque cellule se colore vivement en rose par le rouge neutre. Tandis que les cellules mortes superficielles sont aplaties, les plus profondes sont encore sphériques. Dès le quatrième ou le cinquième jour, l'examen d'une coupe (fig. 16) montre sous le parenchyme sacrifié dont les cellules déformées ont des membranes incolores, une ou deux couches de cellules mortes comme les précédentes, mais sphériques et aux parois d'un brun plus ou moins foncé. Plus tard, ces cellules ne changent guère d'aspect et on les reconnaît toujours aux caractères suivants :

1° Leurs dimensions et leur forme n'ont été nullement modifiées à la suite du traumatisme ;

2° Elles sont mortes ; elles renferment souvent une bulle d'air et portent contre leurs parois des restes cytoplasmiques et nucléaires fixant l'iode et les colorants vitaux. S'il s'agit d'un fruit jeune, on constate que les cellules de parenchyme d'abord riches en amidon perdent cette réserve pendant que s'accomplit la ligno-subérisation. Les phénols d'abord très abondants dans la vacuole s'en échappent

généralement, partiellement au moins ; nous les retrouverons dans la membrane ;

3° Leur membrane est mince et brune contribuant à donner à la cicatrice sa couleur marron ; on peut discerner dans la paroi deux éléments :

a) l'enveloppe ancienne jaunie et lignifiée ;

b) une mince lamelle subéreuse interne néoformée, souvent plissée et, sur les coupes, plus ou moins décollée de l'enveloppe précédente.

L'ancienne membrane pecto-cellulosique est bien lignifiée car elle donne les réactions caractéristiques avec la phloroglucine chlorhydrique (1), le sulfate d'aniline sulfurique, la safranine, le soudan.

La lamelle interne donne les réactions spécifiques de la subérine avec le soudan, la potasse, l'acide chromique, l'acide sulfurique concentré, le bleu d'indophénol.

L'évolution de la membrane est complexe. Ainsi, la lignine n'apparaît pas partout à la fois ; la lignification localisée d'abord dans certaines zones s'étend peu à peu à toute la surface de la paroi primitive. Sur les coupes de fruits fixés les membranes se colorent partiellement par l'hématoxyline (régions non lignifiées), ou par la safranine (régions lignifiées). La phloroglucine chlorhydrique décèle souvent aussi une lignification limitée à l'hémisphère externe de la paroi cellulaire (1178). De même la coloration bleue par l'acide sulfurique iodé est localisée, le reste de la surface de la membrane se colorant en brun (lignine). Parmi les cellules non déformées, les plus profondes sont parfois seules lignifiées. Enfin, ces membranes présentent parfois des verrues visibles sur la figure 10.

La différenciation de la lamelle subéreuse peut être tardive (Ex. 1164-1 : lamelle très peu nette 7 jours après la blessure).

Les modifications de la lamelle moyenne sont difficiles à étudier. Normalement la pectose y domine dans les jeunes fruits. A la suite du traumatisme, cette région se lignifie. En outre, elle est le siège d'une adsorption de phénols après la mort de la cellule car elle se colore en rouge par le réactif de LINDT, et noircit en présence de Fe^2Cl^6 .

(1) Le traitement par l'acide chlorhydrique étendu suffit souvent à colorer les membranes : le fruit renferme de la phloroglucine.

A la face interne de la membrane se trouvent des débris irréguliers, souvent bruns et des gouttes de diamètre varié vivement colorées par le soudan alcoolique. L'AP Sudan met en évidence un nombre bien plus grand de ces gouttes (fig. 10) car l'alcool à 70° utilisé pour préparer le soudan ordinaire entraîne des corps gras (CZAPEK [46]). Certaines de ces gouttes soudanophiles accolées aux membranes sont beaucoup plus grosses que celles qu'on trouve dans le parenchyme normal. Parfois, on peut noter que leurs dimensions

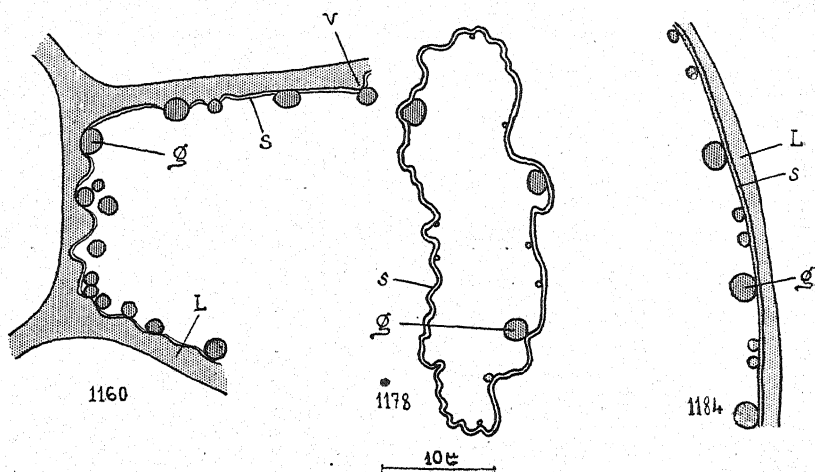


Fig. 10. — Membranes ligno-subérifiées (Pêche); coloration AP sudan (24 heures); s : lamelle subéreuse (rouge vif); L : régions lignifiées (jaunâtres); g : gouttes huileuses soudanophiles; v : verrue de la membrane lignifiée.

sont de l'ordre de celles des plastes; elles en dérivent en effet; nous reviendrons plus tard sur cette question.

Les cellules ligno-subérifiées sont disposées côte à côte, formant une lame continue à peu près parallèle à la blessure et comportant généralement une à trois couches de cellules; cette « *lame ligno-subéreuse* » (1) contourne parfois des extrémités de vaisseaux ou des lacunes gommeuses.

Les constituants nouveaux des membranes rendent les cellules ligno-subérifiées plus étroitement solidaires. La macération des coupes dans l'oxalate d'ammonium ou l'eau oxygénée par exemple

(1) Expression empruntée à TISON [229].

permet par glissement de la lamelle, de séparer les cellules de parenchyme, mais la région ligno-subéreuse conserve son intégrité (1164-2).

Sur les cicatrices de blessures anciennes (Ex. : 26 jours : 1051 ; 72 jours : 1074-2), la zone ligno-subérifiée est interrompue, fragmentée par les tensions dues à la croissance, tout comme le parenchyme sacrifié. Dans la grande majorité des cas, ces cellules empêchent la pénétration des saprophytes ; la rupture du barrage qu'elles constituent serait grave pour les tissus vivants si à ce moment ne s'était pas constituée une autre formation protectrice : le liège.

C. — *Divisions cellulaires et différenciation d'une assise génératrice.*

Les cloisons nouvelles apparaissent dans le parenchyme entre le 4^e et le 7^e jour suivant les échantillons, tantôt dans une seule couche de cellules, tantôt dans plusieurs assises superposées. Sur certains échantillons, quelques cellules seulement sont divisées (1164-1) ; c'est sans doute toujours suivant ce mode discontinu que naît le méristème. Sans aucune exception, les cloisonnements se réalisent d'abord au contact immédiat de la lame ligno-subéreuse et à sa face interne. Souvent les petites cellules de parenchyme se divisent avant les grandes. Le premier cloisonnement n'est pas précédé d'une croissance notable de la cellule et fréquemment, la cloison nouvelle sépare deux cellules-filles inégales, la plus petite étant la plus externe. Dans deux cellules-mères voisines, il est fréquent que les cloisons transversales de l'une soient dans le prolongement de celles de l'autre (fig. 12, α). Ces membranes nouvelles sont tantôt concaves, tantôt convexes, tantôt planes. Généralement elles sont parallèles à la surface de la lésion, mais assez souvent aussi elles sont obliques.

Les noyaux sont très petits et les chromosomes peu nets dans les caryokinèses.

Les cellules récemment divisées en deux renferment de nombreux chloroplastes comme les autres cellules du parenchyme : elles n'ont donc pas subi de dédifférenciation avant de se cloisonner. Fréquemment les deux noyaux récemment formés se font face, de part et d'autre de la paroi nouvelle.

Dès la fin de la première semaine, on trouve des cellules-mères à plusieurs cloisons tangentielles, c'est-à-dire à peu près parallèles à la surface de la lésion. Ces membranes naissent dans la cellule

externe du groupe de deux précédemment formé, si bien que les cellules-filles les plus externes sont les plus petites et les plus jeunes (fig. 11). Lorsque la cellule est grosse, il se fait une ou plusieurs membranes radiales ; souvent, vers les tissus normaux profonds, les cloisons sont disposées plus irrégulièrement. Le désordre apparent est maximum lorsqu'une cellule-mère voisine avec une cellule morte (fig. 12).

Lorsque les cellules ont été le siège de nombreuses divisions, elles

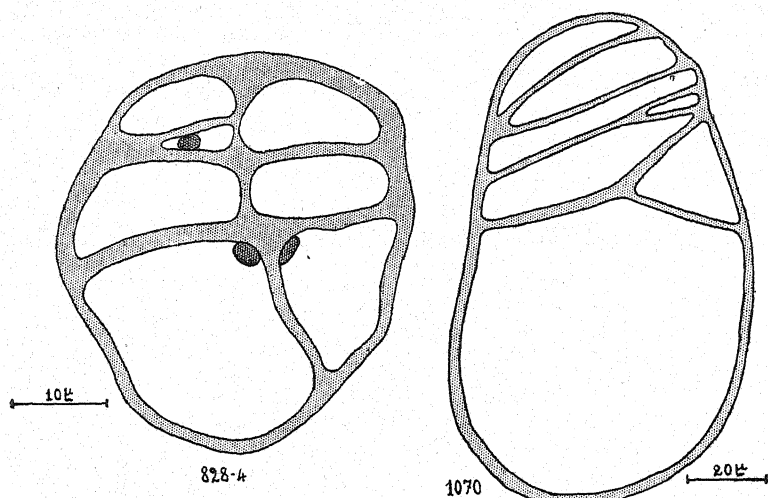


Fig. 11. — Cellules-mères cloisonnées (Pêche). (La surface de la blessure serait en haut de la figure).

sont considérablement agrandies, approximativement cylindriques et remplies par les jeunes cellules empilées (fig. 12).

Dans les cellules sous-jacentes à la zone ligno-subéreuse on peut donc observer successivement :

- 1° d'abord des divisions cellulaires sans croissance notable ;
- 2° plus tard des divisions répétées accompagnées d'une croissance importante.

Sous la zone des cellules-mères principales, d'autres cellules se sont divisées beaucoup moins activement, une ou deux fois par exemple et fréquemment sans avoir grandi notablement (fig. 12).

Dans les éléments allongés qui accompagnent les vaisseaux, les cellules-filles sont généralement plus nombreuses qu'ailleurs.

Les piles sont toujours fortement bombées vers les cellules mortes externes, ce qui laisse présumer une forte turgescence.

Lorsqu'on examine une cicatrice différenciée (15 jours par exemple) sur un fruit opéré en cours de développement rapide (1181), on peut trouver de grandes différences dans les dimensions des cellules par suite de l'arrêt de la croissance dans les cellules ligno-subéreuses et de la division des cellules-mères :

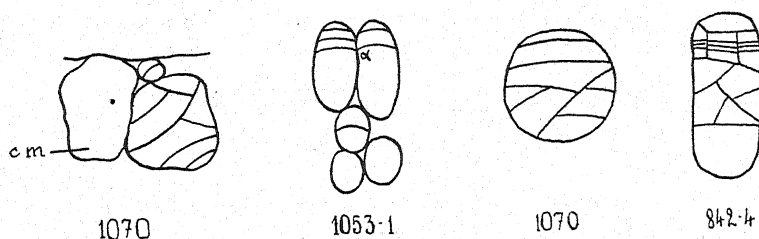


Fig. 12. — Disposition des cloisons nouvelles dans les cellules-mères (Pêche). En α : raccordement des cloisons de deux cellules-mères voisines. cm : cellule morte. La surface de la blessure serait située en haut de chaque dessin.

Exemple :

- | | |
|--|---|
| Cellule ligno-subérifiée ; diamètre : 70 μ | { pas de croissance
depuis l'opération |
| » de méristème ; épaisseur : 20-30 μ . | |
| » de parenchyme normal ; diam.: 100-200 μ . | { forte croissance
(diam.initial: 70 μ) |

Le cloisonnement des cellules-mères se poursuit à partir d'un certain stade uniquement dans l'avant-dernier quart des cellules, en allant de l'intérieur vers l'extérieur. Comme il en est ainsi dans toutes les cellules sous-jacentes à la lame ligno-subérifiée, il se constitue à ce niveau une assise génératrice continue parallèle à la blessure. Il est facile de reconnaître que les plus jeunes cellules ne sont pas exactement les plus externes des piles à leur taille exiguë et à la minceur de leurs parois (fig. 13).

Les membranes nouvelles, même les plus jeunes, se colorent par les réactifs iodés de la cellulose. Fréquemment la paroi ancienne des cellules-mères se colore partiellement seulement ; la pectine y a pris un développement important (842-3). Si l'on fait gonfler préala-

blement les membranes, l'examen entre nicols croisés montre deux traits lumineux très fins même au niveau des plus jeunes ; donc toutes renferment bien de la cellulose.

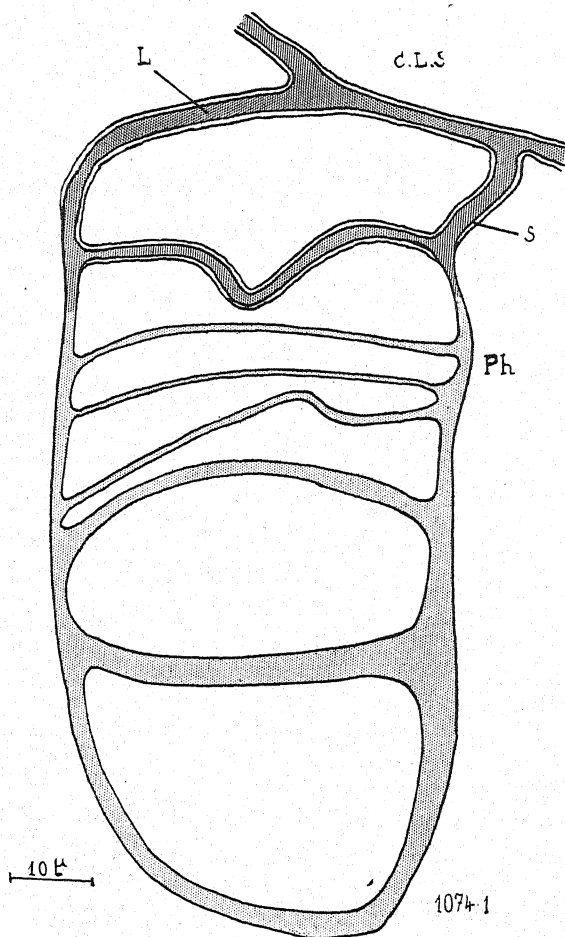


Fig. 13. — Phellogène et ses dérivés (Pêche). Coloration par la phloroglucine chlorhydrique. C.L.S. : cellule ligno-subéreuse ; L : cellulose lignifiée ; S : lamelle subéreuse ; Ph : phellogène ; la surface de la blessure serait située au-dessus de la figure.

Quant au contenu de ces cellules-mères et des jeunes cellules de parenchyme qui en dérivent, on peut faire les remarques suivant-

tes. L'assise génératrice très mince se distingue nettement grâce à sa transparence due à sa pauvreté en inclusions. Parfois j'ai pu voir dans ses cellules, après coloration vitale au bleu de crésyl, de multiples bulles vivement teintées. Dans les cellules-filles situées plus profondément et plus grandes, on observe des chloroplastes dans une mince couche cytoplasmique entourant une grande vacuole colorée en rose par le rouge neutre ; ce dernier y fait apparaître un précipité violet sombre.

Les phénols sont extrêmement abondants dans le méristème cicatriciel, beaucoup plus que dans le parenchyme normal. Les réactions suivantes ont été effectuées :

Fe ² Cl ⁶ concentré	: contenu plasmolysé noir.
Cr ² O ⁷ K ² à 5%	: ppté brun très dense.
R. de BRÆMER	: — — dans tout le méristème.
R. DE COURTONNE	: — — ou verdâtre abondant surtout dans la zone génératrice.
Caféine	: — blanc uniquement dans le méristème.
R. DE LINDT	: — rouge violacé dense dans tout le méris- tème (fig. 14).
R. de JOACHIMOWITZ	: — rouge violacé dense dans le méristème.

Il est difficile de déterminer d'après ces réactions les substances phénoliques présentes ; il s'agit vraisemblablement d'un mélange comportant des composés oxyflavoniques, des tanoïdes, du phloroglucinol ou certains de leurs dérivés.

L'amidon est en quantité faible ou nulle dans toute la zone des cloisonnements récents.

Enfin le méristème renferme parfois des oursins d'oxalate (fig. 14).

D. — *Les tissus secondaires nés de l'assise génératrice. Le liège.*

Nous venons de voir comment, dans le méristème sous-jacent à la lame ligno-subéreuse, est apparue une zone peu différenciée se divisant activement et dans une direction constante : l'assise génératrice. Vers la fin de la deuxième semaine suivant l'opération, les coupes montrent nettement la nature des tissus secondaires issus de cette assise ; ce sont :

1° vers l'intérieur des cellules de parenchyme qui se superposent aux cellules-filles plus anciennes ;

2° vers l'extérieur, du liège.

Pour désigner ces régions sous-jacentes aux tissus morts les

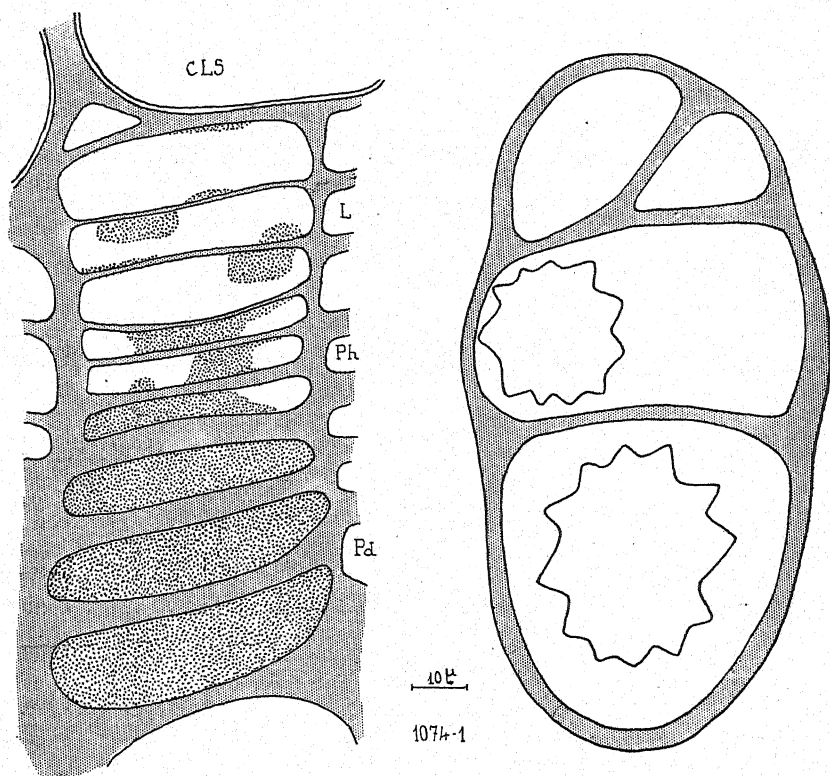


Fig. 14. — Contenu cellulaire du phellogène et du phelloderme (Pêche). A gauche, précipités obtenus avec le réactif de LINDT : CLS : cellule lignosubéreuse ; L : liège ; Ph : phellogène ; Pd : phelloderme. A droite, oursins d'oxalate de calcium. La surface de la blessure serait située en haut de la figure.

plus externes j'utiliserai les expressions de *phellogène* pour l'assise génératrice, et de *phelloderme* pour le parenchyme secondaire. Dans une pile de cellules dérivées d'une seule cellule-mère, on trouve des éléments de liège, de phellogène et de phelloderme. (fig. 13).

Nous avons noté plus haut déjà les caractères du phelloderme :

grande vacuole riche en phénols, cytoplasme pariétal à chloroplastes, membranes pecto-cellulosiques.

Le liège vrai doit être bien distingué des cellules ligno-subérifiées. Celles-ci sont des cellules anciennes, primaires, dont les membranes ont subi à la suite du traumatisme une différenciation nouvelle. Le liège au contraire dérive du fonctionnement d'une assise génératrice : c'est un tissu secondaire. Ses cellules sont parfois très petites par rapport à celles du parenchyme normal.

Le passage de la cellule initiale à la cellule de liège est très rapide ainsi que le prouve le contact étroit de la couche de liège

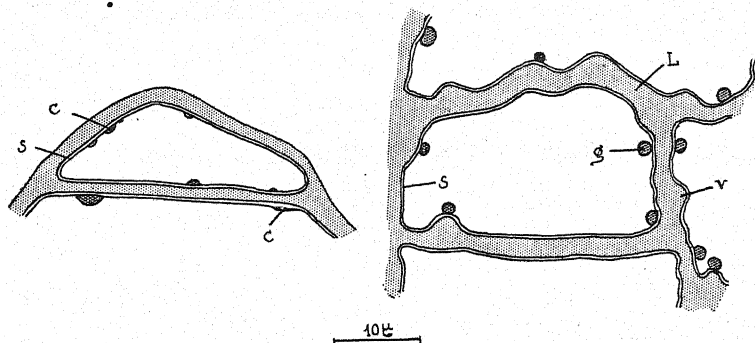


Fig. 15. — Liège (Pêche). A gauche (828-4) : éléments externes subérifiés, d'une cellule-mère (Bouin-safranin). A droite (1181) : liège typique (coloration par l'AP sudan). c : résidus cytoplasmiques ; s : lamelle subéreuse ; L cellulose lignifiée ; v : verrue ; g : goutte soudanophile.

différencié avec le phellogène. La cellule grandit un peu puis meurt après avoir modifié sa membrane.

Le liège est formé de cellules mortes contre les parois desquelles se retrouvent des lambeaux cytoplasmiques et parfois le noyau. Les membranes sont brunes, plus minces que celles des cellules ligno-subérifiées et on peut y distinguer une lamelle subéreuse très fine colorable par le soudan et une région moyenne lignifiée (phloroglucine chlorhydrique) (fig. 15).

Sur les coupes colorées au bleu d'indophénol, on observe les types suivants de membranes en passant du phellogène au liège :

1 : cellule de l'assise génératrice : membrane incolore, ne fixant pas le réactif donc ni subérisée, ni lignifiée ;

2 : cellule pourvue d'une très mince lamelle subéreuse ondulée, teinte en bleu vif.

3 : liège différencié à membrane brune dont la teinte propre empêche de discerner le bleu d'indophénol.

Dans cet exemple (1181) la formation de la lamelle subéreuse précède nettement la lignification.

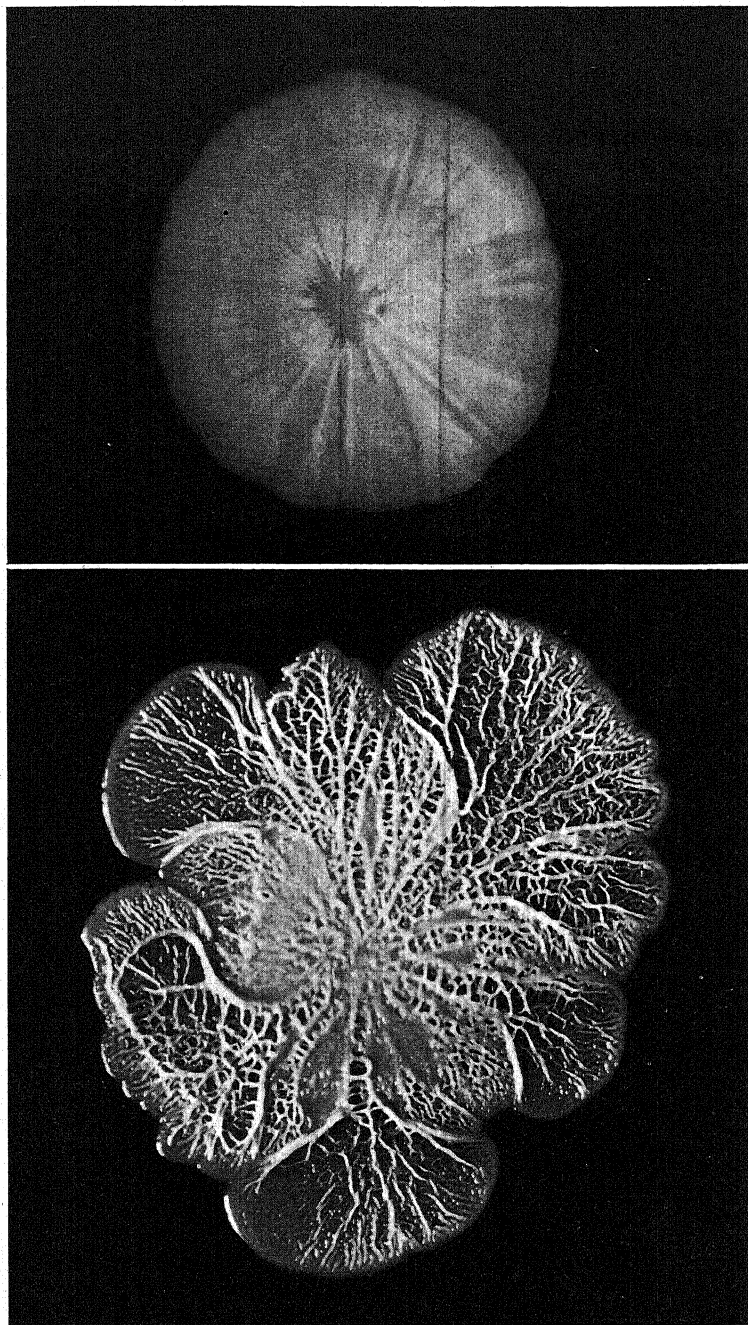
Les parois du liège sont imprégnées de phénols car elles se colorent par le réactif de LINDT, le chlorure ferrique et parfois même les cellules renferment encore des tanoïdes non adsorbés.

Contre les membranes, on peut observer des gouttes huileuses très visibles après coloration par l'AP Sudan. Il faut laisser les coupes longtemps dans le réactif lorsqu'elles sont épaisses, sinon la coloration n'a pas lieu, ce qui s'explique facilement par l'imperméabilité du liège. Les piles de cellules dérivées des cellules-mères sont très étroitement accolées, même au moment où par suite de l'évolution des lamelles moyennes, les cellules du parenchyme profond se décolent et donnent naissance à de nombreux méats. D'ailleurs le rouge de ruthénium colore vivement la lamelle moyenne du liège, légèrement les membranes du parenchyme secondaire et pas du tout celles du parenchyme normal (1).

Les deux figures qui suivent représentent d'une façon simplifiée l'évolution de la cicatrice et sa constitution au moment où tous ses éléments sont différenciés.

(1) On sait que chez les fruits, ce colorant se fixe sur les membranes riches en pectosé, mais ne les colore plus lorsqu'elles sont transformées en pectine (ROSENBERG [204]).

(à suivre)

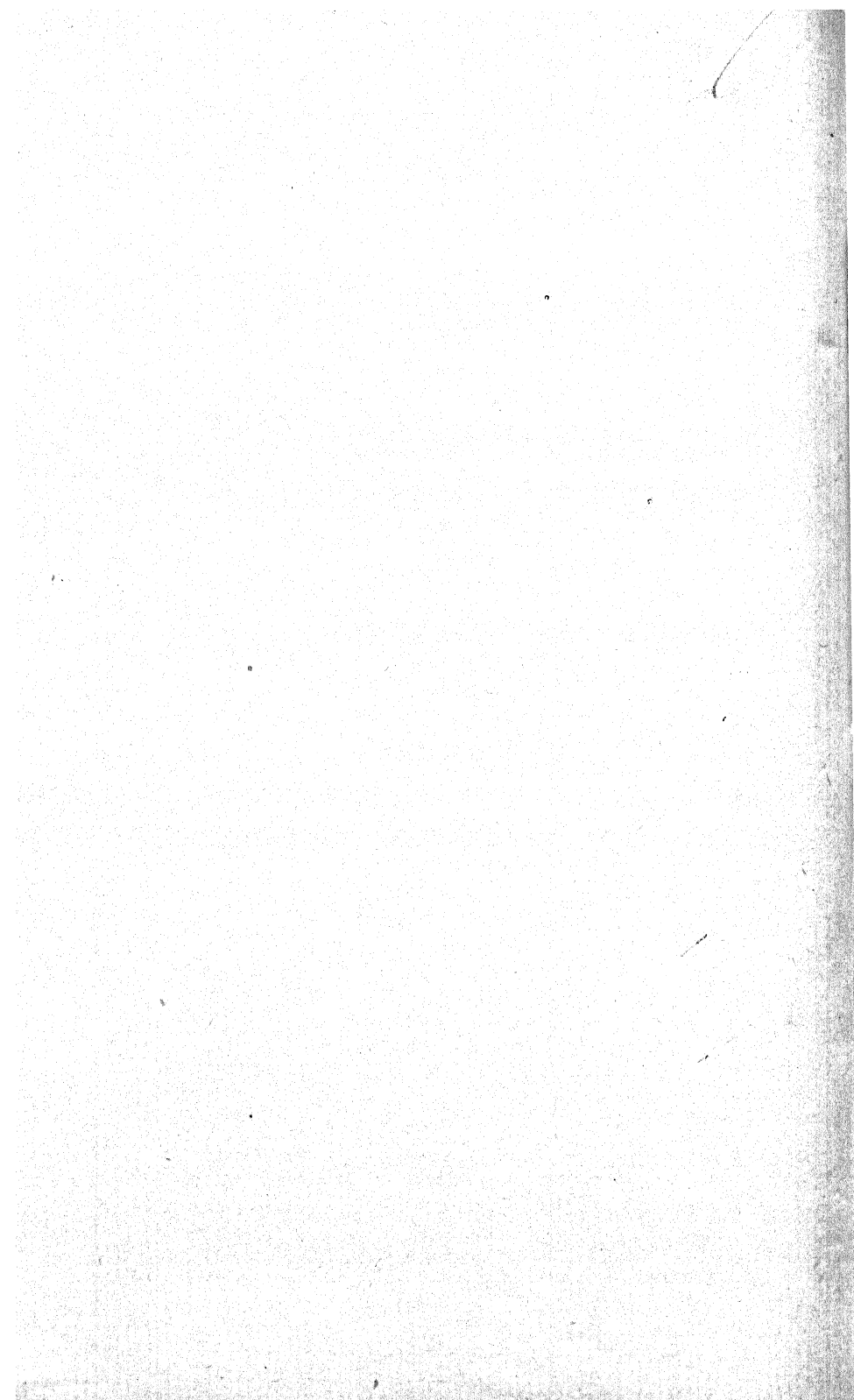


I. P., phot.

Colonies géantes sur moût gélosé, après 30 jours de culture :

En haut : *Zygosaccharomyces Ashbyii* n. sp.

En bas : *Zygosaccharomyces Marxianus*.



SUR QUELQUES FORMES BIOLOGIQUES DU PHOSPHORE DES FEUILLES CHEZ LES ARBRES

par M. R. ÉCHEVIN

Les recherches entreprises sur le rôle physiologique du phosphore dans le métabolisme cellulaire ont fait apparaître la difficulté de séparer les divers principes phosphorés dont on a reconnu la présence dans les tissus végétaux : phospho-lipides, phospho-protéides, nucléo-protéides, phosphore phytinique et phosphore minéral.

JAVILLIER et ses collaborateurs (1) se sont attachés rédemment au perfectionnement des méthodes de dosage de ces diverses formes de phosphore ; la technique qu'ils ont étudiée a permis à Y. COLIN (2) d'en effectuer la séparation quantitative dans les germinations de Blé, dans les graines de Lentille et de Tournesol ; ce travail nous a engagé à essayer la technique pour compléter les résultats que nous avons obtenus antérieurement en ce qui concerne la migration automnale du phosphore des feuilles chez les arbres (3).

(1) JAVILLIER (M.), ALLAIRE (H.) et Mlle GROC. — L'analyse des poudres organothérapiques ; leur teneur en phosphore total, lipidique et nucléique. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1925, **32**, p. 641. — JAVILLIER (M.). Le phosphore nucléique et sa détermination quantitative. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1929, **11**, p. 644. — JAVILLIER (M.) et ALLAIRE (H.). Sur la technique de dosage du phosphore nucléo-protéidique. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1931, **13**, p. 678. — JAVILLIER (M.) et COLIN (Y.). Etudes sur le dosage des principes immédiats phosphorés des végétaux en vue de recherches de physiologie végétale. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1933, **15**, p. 1.552.

(2) COLIN (Y.). — Recherches techniques sur la séparation et le dosage des principes immédiats phosphorés des graines. Variation de ces composés au cours de la maturation et de la germination. *Thèse Doct. Sc., Paris*, 1935.

(3) ECHÉVIN (R.). — L'azote, le phosphore et le soufre chez les plantes ligneuses à feuilles caduques. *Rev. gén. de Bot.*, 1931, **43**, p. 602.

Rappelons que nous avons distingué le phosphore soluble et le phosphore insoluble dans l'acide trichloracétique en épuisant à froid les poudres d'organes, racines, tiges, feuilles, par une solution aqueuse d'acide à 10 p. 100. Le phosphore minéral et le phosphore phytinique passent en solution tandis que les phospho-lipides, les phospho-protéides et nucléo-protéides se retrouvent dans le résidu. En opérant sur de jeunes plants de Hêtre, nous avons constaté qu'au moment du jaunissement automnal le phosphore insoluble des feuilles vertes se transforme, devient acido-soluble puis émigre vers les organes vivaces.

Nous nous sommes demandés si cette transformation et cette migration du phosphore pouvaient être considérées comme un fait général chez les feuilles des arbres. Les variations absolues de ces groupements phosphorés ont été suivies dans des fragments de feuilles de même surface, récoltés sur des arbres adultes de différentes espèces : *Castanea vulgaris* Lam., *Æsculus Hippocastanum* L., *Acer platanoides* L., *Fagus silvatica* L., *Ampelopsis hederacea* Michx., *Prunus Laurocerasus* L. Les feuilles, cueillies sur le même arbre à la même heure du jour, ont été récoltées en quantité suffisante pour permettre d'extraire du limbe, à l'emporte-pièce, 400 fragments circulaires de surface identique, prélevés sur toutes les feuilles, à l'exception de celles du *Prunus*, de part et d'autre de la nervure principale ; 10 rondelles furent extraites de la feuille de *Castanea* et de celle d'*Æsculus*, la feuille d'*Acer*, de *Fagus*, d'*Ampelopsis* fournit respectivement 12, 2 et 5 rondelles. La feuille de *Prunus* permit d'obtenir 6 rondelles détachées en plaçant l'emporte-pièce à cheval sur la nervure principale. Les premières récoltes ont été effectuées à une époque de l'année (24 août ; 24 juillet pour le Laurier) à partir de laquelle, la croissance de la feuille étant terminée, la surface foliaire a acquis son développement définitif. Les fragments de feuilles furent desséchés à l'étuve à 100-105° ; après la pesée de la substance, ils furent broyés au mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre qui fut épuisée par la solution d'acide trichloracétique. L'extrait acide et le résidu, ont été détruits séparément par le mélange sulfo-nitrique. Le phosphore a été dosé par la méthode de Copaux.

Les chiffres ci-après représentent les quantités de phosphore insoluble, de phosphore soluble et par addition de phosphore total

Castanea vulgaris Lam.

24-VIII, F. vertes 10-IX, F. vertes 25-IX, F. vertes

Substance sèche.....	3.363 mg.	4.245 mg.	5.161 mg.
Phosphore total.....	5 mg.	5 mg.05	5 mg.30
— insoluble ...	3 mg.35	3 mg.65	3 mg.85
— soluble.....	1 mg.65	1 mg.40	1 mg.45

30-IX, F. vertes 8-X, F.v.-jaunes 19-X, F. jaunes

Substance sèche.....	4.758 mg.	3.397 mg.	3.108 mg.
Phosphore total.....	4 mg.70	2 mg.68	0 mg.53
— insoluble ...	3 mg.30	1 mg.10	0 mg.53
— soluble.....	1 mg.40	1 mg.58	0 mg.

Æsculus Hippocastanum L.

24-VIII, F. vertes 10-IX, F. vertes 25-IX, F. vertes

Substance sèche.....	2.859 mg.	2.471 mg.	3.333 mg.
Phosphore total.....	5 mg.99	5 mg.91	6 mg.40
— insoluble ...	3 mg.52	3 mg.	4 mg.03
— soluble.....	2 mg.47	2 mg.91	2 mg.37

30-IX, F. v-jaune 8-X, F. jaunes

Substance sèche	2.702 mg.	1.740 mg.
Phosphore total	6 mg.17	1 mg.16
— insoluble.....	3 mg.26	0 mg.57
— soluble	2 mg.91	0 mg.59

Acer platanoides L.

24-VIII, F. vertes 10-IX, F. vertes 25-IX, F. vertes

Substance sèche.....	1.896 mg.	2.000 mg.	2.327 mg.
Phosphore total.....	4 mg.51	4 mg.61	5 mg.20
— insoluble ...	2 mg.68	2 mg.88	3 mg.31
— soluble.....	1 mg.83	1 mg.73	1 mg.89

30-IX, F. vertes 8-X, F. vertes 19-X, F. jaunes

Substance sèche.....	2.539 mg.	2.401 mg.	2.371 mg.
Phosphore total.....	5 mg.07	5 mg.53	2 mg.06
— insoluble ...	3 mg.29	3 mg.54	1 mg.17
— soluble.....	1 mg.78	1 mg.99	0 mg.89

Fagus silvatica L.

24-VIII, F. vertes 10-IX, F. vertes 25-IX, F. vertes

Substance sèche.....	3.658 mg.	3.985 mg.	3.458 mg.
Phosphore total.....	6 mg.76	6 mg.77	7 mg.27
— insoluble ...	3 mg.47	3 mg.67	3 mg.22
— soluble.....	3 mg.29	3 mg.10	4 mg.05

30-IX, F. vertes 8-X, F. v.-jaune 19-X, F. jaunes

Substance sèche.....	3.579 mg.	3.671 mg.	2.932 mg.
Phosphore total.....	7 mg.39	5 mg.83	5 mg.
— insoluble ...	3 mg.06	2 mg.04	1 mg.12
— soluble.....	4 mg.33	3 mg.79	3 mg.88

Ampelopsis hederacea Michx.

24-VIII, F. vertes 10-IX, F. vertes 25-IX, F. vertes

Substance sèche.....	4.766 mg.	4.663 mg.	4.300 mg.
Phosphore total.....	10 mg.64	11 mg.73	11 mg.58
— insoluble ...	4 mg.78	4 mg.46	4 mg.
— soluble.....	5 mg.86	7 mg.27	7 mg.58

30-IX, F. vertes 8-X, F. rouges

Substance sèche	4.065 mg.	3.804 mg.
Phosphore total.....	8 mg.59	7 mg.93
— insoluble.....	2 mg.72	2 mg.17
— soluble.....	5 mg.87	5 mg.76

Prunus Laurocerasus L.

24-VII, F. vertes 24-VIII, F. vertes 24-VIII, F. jaunes

Substance sèche.....	10.578 mg.	10.227 mg.	10.724 mg.
Phosphore total.....	28 mg.35	26 mg.16	39 mg.16
— insoluble ...	7 mg.04	6 mg.65	3 mg.66
— soluble.....	21 mg.31	19 mg.51	35 mg.50

10-IX, F. vertes 20-IX, F. vertes 30-IX, F. vertes

Substance sèche.....	11.604 mg.	11.663 mg.	11.029 mg.
Phosphore total.....	34 mg.96	35 mg.37	34 mg.53
— insoluble ...	6 mg.91	6 mg.81	6 mg.99
— soluble.....	28 mg.05	28 mg.56	27 mg.54

8-X, F. Vertes 19-X, F. vertes 27-X, F. vertes

Substance sèche.....	11.137 mg.	10.628 mg.	10.670 mg.
Phosphore total.....	34 mg.90	34 mg.33	30 mg.70
— insoluble ...	7 mg.72	7 mg.45	7 mg.62
— soluble.....	27 mg.18	26 mg.88	23 mg.08

contenues dans la même surface foliaire (706 cm²,8) des six espèces étudiées, aux différentes récoltes effectuées entre le 24 juillet et le 27 octobre. Le jaunissement des feuilles de *Castanea* et de *Fagus* commença entre le 30 septembre et le 8 octobre; le 19 octobre les feuilles sont entièrement jaunes; les feuilles d'*Acer*, vertes le 8 octobre, ont perdu toute trace de chlorophylle le 19 octobre. Les premières taches jaunes apparaissent sur les feuilles d'*Æsculus* entre le 25 et le 30 septembre, le 8 octobre les feuilles sont complètement jaunes; celles d'*Ampelopsis*, récoltées le 30 septembre, sont tachées de rouge; elles sont entièrement rouges le 8 octobre.

Les feuilles vertes sont, en général, plus riches en phosphore insoluble qu'en phosphore soluble, sauf celles d'*Ampelopsis* et de Laurier; dans toutes les espèces, dès que la teinte verte commence à s'atténuer, on assiste à une diminution rapide de la fraction du phosphore insoluble dans l'acide trichloracétique; les feuilles vertes sont en effet beaucoup plus riches en phosphore insoluble que les feuilles jaunes ou rouges; la proportion de phosphore insoluble qui passe à l'état soluble s'élève à 86% dans les feuilles d'*Æsculus*, à 84% dans les feuilles de *Castanea*, à 66% dans celles d'*Acer*, à 63% dans les feuilles de *Fagus*, à 51% et à 45% dans celles d'*Ampelopsis* et de *Laurus*; la plus grande partie du phosphore insoluble des feuilles vertes se solubilise au moment où la chlorophylle se détruit; c'est au moins la moitié du phosphore insoluble qui disparaît (*Ampelopsis*, *Laurus*), parfois les 9/10 (*Æsculus*); cette transformation s'effectue rapidement: dans les feuilles d'*Æsculus*, par exemple, la quantité de phosphore insoluble tombe, en l'espace de 10 jours, du 30 septembre au 8 octobre, de 3 mg., 26 à 0 mg., 57.

Cette période correspond d'ailleurs, chez toutes les espèces à feuilles caduques, à une diminution du phosphore total consécutive à la migration des substances phosphorées des feuilles vers la tige. Le coefficient de migration, c'est-à-dire le rapport entre la quantité de phosphore qui émigre à celle qui est contenue dans les feuilles vertes, est variable d'une espèce à l'autre: *Castanea*, 0,89; *Æsculus*, 0,82; *Acer*, 0,63; *Ampelopsis*, 0,82; *Fagus*, 0,32. Seul le *Prunus Laurocerasus*, à feuilles pérennantes, fait exception; la migration du phosphore n'a pas lieu; on constate en effet que les feuilles jaunes âgées de deux ans, cueillies le 24 août, sont sensiblement plus

riches en phosphore total que les feuilles vertes du même arbre, récoltées le même jour sur des rameaux de l'année.

De ces chiffres nous avons conclu (1) que la solubilisation du phosphore, caractéristique du jaunissement, intéressait surtout les composés protéiques de la feuille; nous avons admis, en effet, que le phosphore insoluble dans l'acide trichloracétique représentait essentiellement le phosphore protéique. Nous verrons dans ce qui va suivre que cette conclusion est inexacte car la moitié, et quelquefois davantage, du phosphore insoluble dans l'acide trichloracétique est constituée par des phospho-lipides.

En vue de suivre de plus près la répartition et l'évolution des diverses formes biologiques du phosphore, dans une seconde série d'analyses nous avons essayé sur nos poudres de feuilles la technique de JAVILLIER et de ses collaborateurs. Nous nous sommes adressé aux mêmes espèces, mais cette fois, deux stades seulement de la vie des feuilles ont été envisagés : feuilles vertes recueillies entre le 7 et le 12 septembre, feuilles entièrement jaunes (rouges chez l'*Ampelopsis*) récoltées entre le 12 octobre et le 7 novembre. Les feuilles d'*Acer platanoides*, dispersées avant le jaunissement, n'ont pas pu être récoltées; les feuilles vertes et les feuilles jaunes de *Prunus Laurocerasus* ont été cueillies le même jour, 13 septembre : les unes sont des feuilles de l'année, les feuilles jaunes sont des feuilles de deux ans. Toutes les récoltes ont été faites sur les arbres qui nous ont fourni le matériel utilisé dans les analyses précédentes, dans les mêmes conditions, en employant le même emporte-pièce; signalons cependant que les rondelles fournies par les feuilles de *Prunus Laurocerasus* n'intéressent pas, cette fois, la nervure principale, elles ont été prélevées dans le parenchyme, de part et d'autre de cette nervure. De même que celles qui précèdent ces nouvelles analyses ont été effectuées sur une surface foliaire de 706 cm²,8. Sur chaque espèce d'arbre, les feuilles ont été cueillies, avant et après le jaunissement, en quantité telle que nous avons pu constituer 3 lots de 400 rondelles. Pour que les 3 lots soient parfaitement comparables entre eux, les 1.200 rondelles ont été réparties, dans des vases tarés, en 15 lots

(1) ECHEVIN (R.). — La migration automnale du phosphore des feuilles chez les arbres. *C.R. Ac. Sc.*, 1932, **194**, p. 2.160.

de 80; la pesée de substance fraîche, effectuée immédiatement après la récolte, a donné, pour les feuilles rouges d'*Ampelopsis*, par exemple :

Lot n° 1 : 2.382 mg.	Lot n° 6 : 2.425 mg.	Lot n° 11 : 2.322 mg.
— 2 : 2.564 —	— 7 : 2.432 —	— 12 : 2.501 —
— 3 : 2.487 —	— 8 : 2.409 —	— 13 : 2.418 —
— 4 : 2.511 —	— 9 : 2.540 —	— 14 : 2.560 —
— 5 : 2.533 —	— 10 : 2.442 —	— 15 : 2.431 —

en groupant les lots comme ci-dessous :

Lot n° 1 : 2.382 mg.	Lot n° 4 : 2.511 mg.	Lot n° 3 : 2.487 mg.
— 2 : 2.564 —	— 6 : 2.425 —	— 5 : 2.533 —
— 10 : 2.442 —	— 7 : 2.432 —	— 11 : 2.322 —
— 12 : 2.501 —	— 8 : 2.409 —	— 13 : 2.418 —
— 15 : 2.431 —	— 9 : 2.540 —	— 14 : 2.560 —
Lot A 12.320 mg.	Lot B 12.317 mg.	Lot C 12.320 mg.

on obtient 3 lots A,B,C, de 400 rondelles, constitués par une masse de limbe foliaire de même surface et de même poids. A chaque récolte les lots A et B ont été fixés à l'alcool à 95° bouillant; le poids de substance de chacun des deux lots A et B a été calculé d'après celui du lot C, desséché à l'étuve à 100-105°. Le lot A fut utilisé pour la recherche et le dosage des phospho-lipides, le lot B pour le dosage du phosphore phytinique.

Les feuilles du lot A, séparées de l'alcool de fixation, puis finement broyées au mortier, sont épuisées pendant huit heures par l'alcool bouillant dans l'appareil de Kumagava. Après distillation de l'extrait alcoolique mêlé à l'alcool de fixation, le résidu est traité à plusieurs reprises par l'éther et le benzène qui entraînent les phospho-lipides; après destruction sulfonitrique du produit obtenu par évaporation de la solution éthéro-benzénique, le phosphore lipidique est dosé par la méthode de Copaux.

C'est sur la poudre délipidée et sèche, à laquelle était ajoutée la fraction de l'extrait alcoolique insoluble dans l'éther et le benzène, que nous avons essayé la méthode de JAVILLIER et Y. COLIN. La poudre délayée dans 100 cc. de solution aqueuse de chlorure de sodium à 10 % renfermant 0 cc., 5 de triacétine est introduite

dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux et portée à l'ébullition pendant une demi-heure. Ce traitement appliqué par Y. COLIN à la poudre de germe de Blé et à celle de Lentille lui a permis d'extraire et de doser le phosphore nucléo-protéidique, le phosphore phytinique et le phosphore minéral soluble qui passent en solution dans la liqueur chlorurée; il ne reste plus dans le résidu, d'après Y. COLIN que 5 à 10% du phosphore total de la matière initiale. Avec nos poudres de feuilles, nous n'avons pas obtenu de résultats satisfaisants. La plus grande partie du phosphore des feuilles vertes délipidées de *Castanea*, d'*Æsculus*, d'*Acer*, de *Fagus*, d'*Ampelopsis* et de *Laurus* n'est pas entraînée par la solution chlorurée; la fraction du phosphore total de la matière initiale des feuilles vertes d'*Ampelopsis* qui reste dans la poudre délipidée est de 35%; ce déficit s'élève à 50% environ dans les feuilles vertes d'*Acer* et de *Prunus*, à 60% dans celles de *Fagus*, à 75% dans celles de *Castanea* et d'*Æsculus*. L'extraction est bien meilleure avec les poudres de feuilles jaunes; la solution chlorurée entraîne presque tous les principes phosphorés contenus dans la poudre délipidée de feuilles jaunes de *Fagus* et de *Prunus*; les poudres de feuilles jaunes appartenant aux quatre autres espèces ont cependant retenu des quantités de phosphore s'élevant à 20 ou 30% du phosphore total. Y. COLIN qui a éprouvé les mêmes difficultés avec la poudre de graine de Tournesol admet que cette insolubilité est due à l'existence d'associations, composés phytiniques-substances protéiques, qui ne livreraient pas leur phytine à la solution chlorurée mais qui seraient facilement démolies par l'acide trichloracétique. Nous verrons que cette hypothèse est à rejeter dans le cas de nos poudres de feuilles.

Nous avons donc dû renoncer au dosage des nucléo-protéides et de la phytine en utilisant la solution chlorurée comme liquide d'épuisement. La phytine seule a été recherchée sur le second lot B de 400 rondelles; suivant la technique de Y. COLIN elle a été précipitée à froid, par le chlorure ferrique, dans l'extract trichloracétique; le phosphore insoluble a été dosé sur le résidu.

Les variations du phosphore total et du phosphore insoluble dans l'acide trichloracétique sont identiques à celles que nous avons observées dans les précédentes analyses: toutes les feuilles vertes caduques sont beaucoup plus riches en phosphore total que les feuilles

		Substance		PHOSPHORE				
		fraîche	sèche	total	Insoluble dans l'acide trichloracétique	Phytinique	lipidique	
							quantités absorbées	dans 100 g. de sub. sèche
		mg.	mg.	mg.	mg.	mg.	mg.	mg.
<i>Castanea</i>	{ F. vertes...	9.356	4.354	5,05	3,20	0	1,26	28
	{ F. jaunes...	8.834	3.607	1,70	1,32	0	traces	0
<i>Æsculus</i>	{ F. vertes...	7.564	2.411	4,20	2,24	0	1,14	47
	{ F. jaunes...	6.873	1.635	0,70	0,32	0	0	0
<i>Acer</i>	{ F. vertes...	6.147	2.138	4,55	2,90	0	1,15	54
	{ F. jaunes...	—	—	—	—	—	—	—
<i>Fagus</i>	{ F. vertes...	7.897	3.641	5,80	3,41	0	1,04	28
	{ F. jaunes...	7.231	2.659	4,20	1,04	0	traces	0
<i>Ampelopsis</i>	{ F. vertes...	12.271	4.055	8,20	3,27	0,37	1,45	36
	{ F. rouges...	12.320	3.788	4,50	1,32	0	0,12	3
<i>Prunus</i>	{ F. vertes...	17.282	7.139	12,54	2,28	2,75	1,46	20
	{ F. jaunes...	17.434	7.856	14,80	1,12	3,30	0	0

jaunes; nous retrouvons les mêmes variations: solubilisation et migration vers les organes vivaces, au cours du jaunissement, d'une grande partie du phosphore des feuilles vertes. Les feuilles pérennantes de *Prunus Laurocerasus*, ici encore, font exception: la moitié du phosphore insoluble des feuilles vertes passe à l'état soluble au cours du jaunissement, mais la migration des principes phosphorés vers les rameaux ne se produit pas: les feuilles jaunes sont en effet plus riches en phosphore total que les feuilles vertes.

Nous n'avons pas trouvé de phosphore phytinique dans les feuilles vertes ou jaunes de *Castanea*, d'*Æsculus*, d'*Acer*, de *Fagus*; nous l'avons rencontré en faible quantité dans les feuilles vertes d'*Ampelopsis*, en quantité plus élevée dans les feuilles vertes et dans les feuilles jaunes de *Prunus Laurocerasus*; la présence de phytine dans les feuilles de cette espèce a d'ailleurs été signalée récemment par MICHEL-DURAND (1). Rappelons que c'est précisément sur les

(1) MICHEL-DURAND (E.). — Sur le métabolisme du phosphore dans les feuilles de quelques plantes à feuillage persistant au cours du jaunissement. *C.R. Ac. Sc.*, 1935, 201, p. 1.215.

feuilles de *Prunus* que les extractions des principes phosphorés par la solution chlorurée ont été les plus satisfaisants, qu'ils fournirent au contraire des déficits considérables lorsqu'ils furent effectués sur les feuilles ne contenant point de phytine ; en ce qui concerne nos poudres de feuilles, tout au moins, il est impossible d'attribuer l'insolubilité des composés phosphorés dans la solution chlorurée à des liaisons phytines-protéides.

L'absence de phytine dans la plupart de nos poudres de feuilles nous amène à envisager l'hypothèse émise par certains auteurs sur la formation de cette substance. WINTERSTEIN (1) et POSTERNAK (2) firent connaître la phytine, qu'ils isolèrent de différentes graines, et en déterminèrent la composition chimique ; c'est une liaison calcique et magnésienne de l'ester hexa-phosphorique de l'inosite ; d'après POSTERNAK (3) la phytine serait un des premiers termes de l'assimilation de l'acide phosphorique ; l'inosite prendrait naissance dans la feuille pendant l'acte même de la réduction chlorophyllienne ; elle serait estérifiée sur place par l'acide phosphorique, la phytine formée émigrerait des feuilles vers les organes de réserve. Les travaux effectués sur la répartition de l'inosite et des phytines dans les divers organes des végétaux ont montré que l'inosite est très largement répandue ; sa présence est indiquée dans les racines, les rhizomes, les tiges, les feuilles, les inflorescences, les fruits d'un grand nombre d'espèces, dans les pleurs de la Vigne, dans le latex de diverses Composées ; on l'a rencontrée dans les feuilles de *Juglans regia*, *Quercus robur*, *Ulmus americana*, *Acer pseudo-platanus*, *Fraxinus excelsior*, *Ampelopsis hederacea*, *Castanea vulgaris*.

La phytine, au contraire, si fréquente dans les graines, n'a été que fort rarement signalée dans l'appareil végétatif. HENRICI (4)

(1) WINTERSTEIN (E.). — Über einen phosphorhaltigen Pflanzenbestandteil welcher bei der Spaltung Inosit liefert. *Ber.*, 1897, **30**, p. 2.299.

(2) POSTERNAK (S.). — Contribution à l'étude chimique de l'assimilation chlorophyllienne. Sur le premier produit d'organisation de l'acide phosphorique dans les plantes à chlorophylle avec quelques remarques sur le rôle physiologique. *Rev. gén. Bot.*, 1900, **12**, pp. 5 et 65.

(3) POSTERNAK (S.). — Sur la constitution de l'acide phosphorique de réserve des plantes vertes et sur le premier produit de réduction du gaz carbonique dans l'acte de l'assimilation chlorophyllienne. *C.R.Ac. Sc.* 1903, **137**, p. 439.

(4) HENRICI (M.). — Phosphormangel als Ursache von Störungen im Leben der Pflanze. *Verhandl. der Naturf. Gesells. in Basel*, 1927, **38**, p. 316.

indique sa présence dans les feuilles de deux plantes africaines : *Eragrostis abyssinica* et *Monocymbium ceresiiforme*; d'après KNOWLES et WATKIN (1) la plus grande partie du phosphore soluble contenu dans l'appareil végétatif du blé est constituée par de la phytine; nous l'avons rencontrée dans les feuilles d'*Ampelopsis* et dans celles de *Prunus Laurocerasus*; MICHEL-DURAND en a trouvé de faibles quantités dans les feuilles de Lierre d'Algérie et d'*Aucuba*. A notre connaissance la phytine n'a jamais été signalée dans les feuilles d'autres espèces. HART et TOTTINGHAM (2) l'ont recherchée sans succès dans les parties végétatives du Chou-navet Rutabaga. Dans les feuilles de Blé, DE TURK, HOLBERT et HOWK (3) n'ont pas trouvé de phytine qui, selon KNOWLES et WATKIN, s'y rencontre en proportion relativement importante; ils ont essayé en vain de la caractériser par le perchlorure de fer. La phytine n'existe pas dans les jeunes bourgeons d'*Asparagus officinalis* alors qu'on rencontre de l'inosite dans les fruits (4). CURTIUS et FRANZEN (5) ont isolé l'inosite des feuilles de *Castanea vulgaris* dans la proportion de 0,043% de la substance fraîche; ils ont également isolé une substance cristalline qu'ils supposent être une combinaison calcomagnésienne de l'inosite mais dans laquelle il leur a été impossible de mettre le phosphore en évidence; il ne peut s'agir, par conséquent, de phytine.

Ainsi le phosphore phytinique n'aurait été rencontré jusqu'à présent, avec quelque certitude et en quantité appréciable, que dans les feuilles de deux plantes africaines et dans celles du *Prunus*

(1) KNOWLES (F.) et WATKIN (J.-E.). — The amounts and distribution of some phosphorus nitrogen compounds in wheat during growth. *Journ. Agr. Sc.*, 1932, **22**, p. 755.

(2) HART (E.-B.) et TOTTINGHAM (W.-E.). — The nature of the acid soluble phosphorus compounds of some important feeding materials. *Journ. Biol. Chem.*, 1909, **6**, p. 431.

(3) DE TURK (E.-E.), HOLBERT (J.-R.) et HOWK (B.-W.). — Chemical transformations of phosphorus in the growing corn plant, with results on two-first generation crosses. *Journ. Agr. Research*, 1933, **46**, p. 121.

(4) ARBENZ. — Phytin-Gehalt von Nahrungsmitteln. *Ztsch. Unters. Nahrungs-u. Genussm.*, 1922, **44**, p. 86.

(5) CURTIUS (T.) et FRANZEN (H.). — Über die chemischen Bestandteile grüner Pflanzen. 9. Mitt.: Über einige nicht flüchtige in Wasser lösliche Bestandteile der Edelkastanienblätter. *Sitz. Ber. Heidelb. Akad., Math.-Naturw. Cl., Abt. A.* 1916.

Laurocerasus ; encore faut-il faire remarquer que l'ester hexaphosphorique n'a jamais été isolé de ces matériaux à l'état de phytine. Si l'estérification de l'inosite s'effectuait dans le parenchyme foliaire on devrait au contraire constater, sinon l'accumulation, tout au moins la présence de phytine dans la plupart des feuilles.

Dans toutes les feuilles vertes on rencontre des quantités relativement importantes de phospho-lipides. Remarquons tout de suite que lorsqu'on traite les poudres de feuilles vertes par l'acide trichloracétique la fraction du phosphore qui ne passe pas en solution est loin d'être presque uniquement constituée par du phosphore protéique ainsi que nous l'avions admis dans un travail antérieur. Dans toutes les feuilles vertes les phospho-lipides, insolubles comme les phospho-protéides dans l'acide trichloracétique, représentent la moitié, quelquefois plus, du phosphore insoluble total. La teneur des feuilles en phospho-lipides, rapportée à 100 gr. de substance, est très différente d'une espèce à l'autre ; dans les feuilles du Hêtre, elle est sensiblement plus élevée que celle qui a été déterminée par FRICKE (1). Par contre, on remarque que la quantité de phosphore lipidique contenue dans la même surface foliaire est relativement constante pour toutes les espèces étudiées. Ce fait permet déjà d'entrevoir une relation entre la répartition de ces substances et celle du pigment chlorophyllien dont la masse est généralement proportionnelle à la surface de la feuille. Mais en outre on constate qu'il n'existe plus, en général, de phospho-lipides dans les feuilles jaunes ; celles d'*Æsculus* et de *Prunus*, d'un jaune uniforme, n'ont fourni aucune trace de phosphore lipidique à l'analyse. Les feuilles jaunes de *Castanea* et de *Fagus* renfermaient encore de faibles quantités de chlorophylle ; les feuilles rouges d'*Ampelopsis* en contenaient encore suffisamment pour que l'extrait éthéro-benzénique soit nettement coloré ; or, cette dernière espèce est la seule dont les feuilles, à la seconde récolte, renferment encore une faible quantité de phosphore lipidique. La disparition de la chlorophylle des feuilles au cours du jaunissement automnal a lieu simultanément avec celle des phospho-lipides. Cette constatation fait ressortir une

(1) FRICKE (K.). — Beiträge zur Kenntnis der Bestandteile einiger Laubholzblätter. *Zeitsch. f. phys. Chem.*, 1925, **143**, p. 272.

relation étroite entre la désagrégation du chloroplaste et la disparition des lécithines ; elle confirme, par une voie très différente, les observations de GUILLIERMOND et MANGENOT (1) qui ont conclu que les lipides des plastes, des chloroplastes en particulier, sont constitués par des graisses phosphorées, en même temps qu'elle apporte un argument nouveau en faveur de l'hypothèse relative à l'existence de chloro-lécithines.

(1) GUILLIERMOND (A.) et MANGENOT (G.). — Sur l'Autoplastensekret et le Mesekret de Arthur Meyer. *C.R. Soc. Biol.*, 1923, **89**, p. 240.

RECHERCHES

SUR LA

GÉNÉTIQUE DES ASCOMYCÈTES

DU GENRE *NEUROSPORA*

par M. Fernand MOREAU et Mlle C. MORUZI

(Suite)

I. — Les somations observées au cours du développement des souches issues de spores de grande taille.

Nos souches 10 et 12 nous ont fourni des variations en cours de végétation dont le milieu nutritif, toujours sensiblement le même, le moût de maïs gélosé, ne paraît pas être responsable. Parfois, dans une série de tubes, une ou plusieurs cultures présentent un caractère particulier ; parfois encore, dans un tube, la culture manque d'uniformité ; ses caractères sont différents dans ses diverses parties ; plus souvent, à la suite d'un semis central dans une boîte de Petri, tous les secteurs de la culture n'ont pas les mêmes caractères ; on parle alors de variations sectoriales.

On isole les cultures aberrantes, on prélève dans les cultures hétérogènes les mycéliums de leurs diverses parties, on éprouve par des repiquages la stabilité des formes ainsi séparées, et c'est ainsi qu'on obtient d'assez nombreux exemples de somations.

SOMATIONS DE LA SOUCHE 10

De la souche 10 nous avons obtenu des « variantes » diverses, que nous avons appelées 10 AP², 10 AC², 10 AT, 10 AS, 10 B, 10 Bp, 10 Bc.

Les deux premières sont pourvues de conidies comme le mycélium initial, les autres sont aconidiales. Toutes sont dépourvues de périthèces.

L'apparition du caractère aconidial est quelque chose d'inattendu. Quant à la perte de la faculté de fournir des périthèces, elle peut être due à une indifférence sexuelle totale, à une stérilité foncière, acquises par notre souche homothallique, ou elle peut répondre à l'acquisition par elle de l'état hétérothallique : cette dernière hypothèse est exacte. Les souches 10 AC², 10 AT, 10 B, ne donnent ensemble aucun périthèce, mais il s'en fait lorsqu'on les place en présence de 10 AP². Tout se passe comme si 10 AP² d'une part, 10 AC², 10 AT, 10 B d'autre part, représentaient deux « sexes » au sens blakesléen. De plus nous avons établi que ces deux sexes correspondent à ceux qu'on peut distinguer dans les souches normales de *Neurospora sitophila*.

Nous avons souvent choisi comme souches de référence les souches 17 et 18, reconnues de « sexe » opposé. 10 AP² se montre du même sexe que 18, 10 AC², 10 AT, 10 B sont du sexe de 17. Le tableau suivant (Tableau II) qu'on lira comme une table de Pythagore et dans lequel le signe + indique la présence de périthèces, le signe —, l'absence de ces productions, résume les attitudes sexuelles des « variantes » de 10, les unes vis-à-vis des autres et à l'égard des souches 17 et 18.

TABLEAU II

	17	10AC ₂	10AT	10B	10AP ₂	18
17	—	—	—	—	+	+
10AC ₂	—	—	—	—	+	+
10AT	—	—	—	—	+	+
10B	—	—	—	—	+	+
10AP ₂	+	+	+	+	—	—
18	+	+	+	+	—	—

La souche 10 montre donc en cours de végétation des variations dont les unes atteignent la formation des conidies, tandis que les

autres substituent à l'état homothallique de la souche 10 un hétérothallisme soumis aux règles de la sexualité bipolaire.

SOMATIONS DE LA SOUCHE 12.

De même, dans la souche 12, aconidiale et homothallique, nous avons observé des variations portant sur le comportement sexuel du mycélium. A plusieurs reprises, nous avons obtenu des mycéliums dépourvus de périthèces. Ils ont été isolés sous les noms de 12 I, 12 II, 12 III, 12 IV, 12 V. Ces « variantes » stériles de 12 ne montrent pas l'indifférence sexuelle de mycéliums foncièrement stériles : mises en présence de la souche 18, elles donnent lieu à la production de périthèces ; il ne s'en fait pas lorsqu'on met ces « variantes » en présence de 17, ni lorsqu'on les cultive en présence les unes des autres. Le tableau III ci-après exprime ces faits. Nos « variantes » de 12 apparaissent donc comme du même « sexe », qui est celui de 17.

TABLEAU III

	17	12 I	12 II	12 III	12 IV	12 V	18
17	—	—	—	—	—	—	+
12 I	—	—	—	—	—	—	+
12 II	—	—	—	—	—	—	+
12 III	—	—	—	—	—	—	+
12 IV	—	—	—	—	—	—	+
12 V	—	—	—	—	—	—	+
18	+	+	+	+	+	+	—

S'il en est ainsi, nous pouvons prévoir que les cinq cultures « variantes » de 12 fourniront des périthèces avec 10 AP², et n'en fourniront point dans les cultures avec 10 AC², 10 AT, 10 B. C'est en effet ce qu'indique le tableau IV qui montre comment ces divers *Neurospora* se comportent les uns vis-à-vis des autres.

Nous observons donc la production par la souche 12, d'abord

aconidiale et homothallique, de mycéliums également aconidiaux, mais tous unisexués et tous du sexe de la souche 17.

Parmi les variantes de la souche 12, il en est une, 12 IV, dont l'histoire a offert quelques faits intéressants.

TABLEAU IV

	12 I	12 II	12 III	12 IV	12 V
10AP ₂	+	+	+	+	+
10AC ₂	—	—	—	—	—
10AT	—	°	—	—	—
10B	—	—	—	—	—

12 IV a été prélevé dans un secteur d'une culture de la souche 12 exempt de périthèces. Il en a été obtenu toute une série de cultures également dépourvues de périthèces et qui, dans les confrontations avec d'assez nombreuses souches, se sont révélées du signe de la souche 17. Parmi elles, il en est qui ont fait retour à l'état homothallique dans les conditions suivantes : pour le repiquage du mycélium, un fragment d'agar de près de 1 cm² de surface était prélevé dans une culture-mère et déposé à la surface de l'agar de la culture-fille ; nous avons observé parfois que sur le fragment ainsi disposé des périthèces prennent naissance, ainsi que sur l'agar de la culture nouvelle au voisinage du fragment ancien ; dans la culture-mère, la région à laquelle avait été emprunté le fragment d'agar était resté indemne de périthèces. Le transfert d'un fragment de la culture ancienne sur un nouveau milieu nutritif paraît avoir déterminé la possibilité de former des périthèces.

Il n'y a pas lieu, dans ces cultures de la souche 12, exempte de conidies, de redouter une infection fortuite, si les repiquages ont été faits avec soin. Nous admettons que la « variante » 12 IV a fait retour à l'état homothallique.

SOMATIONS DE LA SOUCHE 27

La souche 27, issue d'une spore double produite par la souche 12, est homothallique et aconidiale comme celle-ci. Du moins les pre-

mières cultures obtenues montrent-elles de nombreux périthèces. Au bout de quelques mois, nos repiquages demeurent stériles et nous pensons avoir observé ici encore le passage de l'état homothallique à l'état hétérothallique.

En résumé, les souches 10 et 12 issues de spores de grande taille de *Neurospora sitophila*, ainsi que la souche 27 issue d'une spore double ont, en cours de végétation, montré des variations intéressantes ; la première a perdu la faculté de produire des conidies ; 10 et 12 originellement homothalliques, peuvent perdre la faculté de produire des périthèces à la manière des mycéliums homothalliques, mais elles conservent la possibilité de le faire dans des confrontations que régissent les règles de la sexualité bipolaire : elles perdent le caractère de souches homothalliques pour devenir hétérothalliques. Cette transformation n'est pas définitive, et on peut observer un retour à l'état homothallique. La souche 27 montre également en cours de végétation une mutation qui lui fait perdre le caractère homothallique et la propriété de former des périthèces.

II. — Les mutations observées dans la descendance des souches issues des spores de grande taille.

Indépendamment des variations qui viennent d'être étudiées et qui atteignent les *Neurospora* au cours de leur développement, il en est d'autres qui surviennent à l'occasion de la formation des ascospores et qu'on observe lors de l'établissement de souches nouvelles.

Ces variations, qui sont des mutations proprement dites, sont extrêmement nombreuses de telle sorte que des souches diverses issues des ascospores d'un même périthèce sont souvent assez différentes les unes des autres, pour donner lieu, sur le même milieu nutritif et dans les mêmes conditions de développement, à des cultures d'aspects différents. Ces souches se distinguent par exemple les unes des autres par l'exubérance de leurs cultures, par leur couleur plus claire ou plus foncée, par la production de petits sclérotés plus ou moins nombreux, plus ou moins serrés les uns contre les autres, par la présence ou l'absence des conidies, par la nuance de ces dernières, du rose au saumon, et par celle du mycélium lui-même, rose pâle, jaune ou totalement incolore ; elles diffèrent encore par leur polarité sexuelle, par leur aptitude à former des périthèces et par

leur comportement sexuel vis-à-vis d'une même souche, comportement dont les variations se traduisent par les aspects divers des cultures mixtes que nous avons décrits plus haut. De la combinaison de ces caractères résulte souvent pour chacune une physionomie qui lui est propre.

Dans ce chapitre nous avons porté notre attention surtout sur de gros caractères, d'observation aisée, tels que la présence ou l'absence de conidies ou le caractère homothallique ou hétérothallique des souches.

MUTATIONS OBSERVÉES DANS LA DESCENDANCE DE LA SOUCHE 10

De la souche 10, nous avons séparé à diverses reprises de nombreuses ascospores; beaucoup étaient des ascospores ordinaires, d'autres avaient la valeur de plusieurs ascospores simples. Etudions séparément les souches qui en sont issues.

Souches issues d'ascospores simples.

Des ascospores ordinaires de la souche 10, nous avons obtenu deux grands groupes de mycéliums; les uns sont pourvus de conidies, comme la souche 10 elle-même, c'est le cas des souches 25, 26, 31, 39, 40, 41, 42, 43, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 140, 141 (1); les autres, comme les souches 11, 22, 23, 24, 44, 45, 46, 48, 122, 139 (2) sont asporiques. L'apparition de souches aconidiales dans la descendance de la souche 10, pourvue de conidies, n'est pas sans surprendre.

Toutes les souches que nous venons d'énumérer sont hétérothalliques: elles se répartissent en deux grandes catégories qui se comportent, quand on les confronte deux à deux, suivant les règles de la « sexualité bipolaire ». Les souches 11, 23, 25, 26, 29, 40, 43, 44, 45, constituent un premier groupe; toutes sont de même signe; cultivées ensemble, elles ne fournissent pas de périthèces. De même, les souches 22, 24, 31, 41, 42, 46, 48, 122, 133 formant un second groupe de souches affectées du même signe et qui demeurent stériles dans les cultures où elles sont en mélange. Par contre, si on réunit

(1) 131 provient d'une spore de très petite taille, 140, 141 de spores légèrement plus grandes que les spores ordinaires.

(2) 139 provient d'une spore un peu plus grande que les spores ordinaires.

dans une même culture deux mycéliums empruntés aux deux groupes précédents, on assiste à la formation de périthèces.

De la souche 10, conidiale et bisexuée, on obtient donc, par le semis d'ascospores simples, des souches unisexuées, dont les unes sont conidiales, les autres aconidiales. Les deux caractères du « sexe » et de la formation ou de l'absence des conidies sont indépendants.

Souches issues d'ascospores doubles.

Une ascospore de taille plus élevée que d'ordinaire, et qu'en raison des caractères de la souche qu'elle a donnée on peut tenir pour une ascospore double, prélevée dans un périthèce de la souche 10, a reçu le numéro 47 ; elle a fourni une souche bisexuée et asporique. Des périthèces de la souche 47, à plusieurs reprises, nous avons isolé des ascospores simples ; mises en culture, ces dernières ont engendré des souches, dont les unes sont conidiales (99, 100, 175) les autres aconidiales (101, 102, 103, 176, 177, 178). Aucune ne fournit de périthèces. Il a été vérifié que 99 et 103 sont affectées d'un signe, le signe de 11, 23, etc... et que 100, 101, 102 sont affectées du signe opposé.

Le retour à l'état conidial de la descendance d'une souche asporique peut surprendre ; en présence de ce fait inattendu, on peut craindre une infection accidentelle des cultures par une conidie étrangère, en suspension dans l'air, et déposée à la surface des milieux nutritifs au cours de l'isolement des ascospores. Aussi avons-nous voulu donner à nos observations une forme différente :

Des ascospores sont prélevées en masse dans plusieurs périthèces de la souche 47 ; on les répartit à la pipette à la surface de la gélose nutritive d'une fiole plate stérilisée et bouchée au coton ; on chauffe le récipient pour provoquer la germination des spores ; dans le cas présent, la température a atteint environ 95°. Au bout de quelques jours à la température du laboratoire, une région de la culture est pourvue de conidies.

Une souche 47, homothallique et asporique, issue d'une spore de taille un peu supérieure à la moyenne, ayant sans doute la valeur d'une spore double, peut donc engendrer des souches unisexuées, dont les unes sont asporiques et les autres font retour à l'état conidial de la souche aïeule.

Souches issues d'ascospores géantes.

Des ascospores géantes, prélevées dans la descendance de la souche 10, équivalant chacune à trois ou quatre spores simples, ont donné naissance à des mycéliums aux caractères différents : la souche 13, qui reconnaît cette origine, est unisexuée et conidiale, tandis que la souche 14 est conidiale et homothallique.

Souches issues d'ascospores extra-géantes.

Des spores extra-géantes, équivalant chacune à cinq ou six ascospores simples, ou davantage, ou même à toutes les ascospores d'un asque, ont été mises en culture : les souches 12 et 21 ont été ainsi obtenues.

La souche 21 est asporique et unisexuée, tandis que la souche 12 est asporique et bisexuée.

Ces faits sont intéressants : ils montrent que de la souche 10, conidiale et homothallique, peuvent sortir, par le semis des ascospores, toute une série de souches qui diffèrent généralement de la souche-mère par divers caractères. De toutes les souches énumérées plus haut, il n'est que les souches 14, 130 et 142, qui possèdent le caractère conidial et produisent des périthèces comme la souche 10 ; les autres s'en distinguent par un de ces caractères : beaucoup sont asporiques, d'autres sont hétérothalliques, d'autres enfin sont, au contraire de la souche 10, à la fois asporiques et hétérothalliques.

MUTATIONS OBSERVÉES DANS LA DESCENDANCE DE LA SOUCHE 12.

La souche 12, dont il vient d'être question, issue d'une spore extra-géante de la souche 10, dont elle partage le caractère homothallique, mais dont les cultures, en l'absence de conidies, sont incolores, a fourni toute une série de souches, par le semis des ascospores. En principe, ces souches, filles de 12, sont asporiques comme elle et unisexuées.

Beaucoup proviennent d'ascospores ordinaires (15, 16, 17, 18, 19, 20, 28, 29, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 63, 64, 65, 66, 119, 120, 121, 145, 146, 147, 148). Toutefois 63 dérive d'une spore plus petite que d'ordinaire, 145, 146, 147, d'une spore légèrement plus grande que les spores normales. Une ascospore géante a donné naissance à la souche 67, une spore extra-géante à la souche 68, toutes deux aspo-

riques et sans périthèces, comme les précédentes. Une ascospore double a fourni la souche 27 asporique et productrice de périthèces.

Toutes les souches hétérothalliques précédentes se laissent répartir en deux groupes au point de vue de leur comportement sexuel : 17, 36, 65, 120 sont stériles dans leurs cultures mixtes : 15, 16, 18, 19, 20, 28, 32, 34, 35, 37, 38, 64, 66, 67, 68, 121, le sont aussi dans leurs confrontations deux par deux ; mais les cultures qui réunissent une souche d'un de ces groupes et une souche de l'autre produisent des périthèces. Leurs deux « sexes » sont les mêmes que ceux des souches que nous avons obtenues à partir de la souche 10. Ainsi le groupe de souches 22, 24, 31, 41, 42, 46, 48, 122, 133 mis en présence de la souche 17 et des souches du groupe 17 donne lieu à la formation de périthèces ; le groupe 11, 23, 25, 26, 39, 40, 43, 44, 45 se révèle de signe opposé à celui de la souche 18, des périthèces se formant dans les cultures qui les confrontent avec la souche 18 ou celles du groupe de 18.

Une mention doit être faite de quelques souches issues de spores ordinaires de la souche 12, plus précisément de la mutante de la souche 12 que constitue le mycélium 12 IV. Ce mycélium, après s'être montré hétérothallique et du signe de 17, a fonctionné, nous l'avons vu plus haut, comme un mycélium homothallique. Quatre des spores fournies alors par lui, de taille ordinaire, ont fourni les souches 118, 119, 120, 121. Toutes les quatre sont aconidiales, 118 est homothallique, 119, 120, 121 sont hétérothalliques. Le signe de 17 était celui de 12 IV pendant la période où ce mycélium fonctionnait comme un mycélium unisexué ; il est intéressant de noter que si 120 est du signe de 17, 121 est du signe de 18.

En règle générale donc, les souches issues de la souche 12, par le semis des ascospores sont des souches asporiques et unisexuées. La mutation porte ici sur le seul caractère hétérothallique ou homothallique.

Indiquons pourtant qu'une ascospore simple, issue de 12, a fourni une souche 30, sans périthèces, mais conidiale : il peut y avoir là une mutation portant sur la formation des conidies, mais nous ne saurions écarter totalement l'hypothèse d'une contamination accidentelle de la culture.

Nous faisons donc connaître dans la descendance de la souche 12 des mutations survenues brusquement lors de l'établissement de

souches nouvelles, et portant notamment sur le passage à l'état hétérothallique.

En résumé, des variations peuvent s'observer dans la descendance des souches de *Neurospora* issues de spores de taille supérieure à la taille ordinaire. Elles se présentent comme des « mutations » qui affectent les mêmes caractères que les « somations » précédemment étudiées. Dans la famille de souches issues de la souche 10, les spores engendrent des souches homothalliques ou hétérothalliques, conidiales ou aconidiales. L'apparition du caractère conidial paraît, sauf une exception, définitive dans la souche 12 et les souches issues d'elle. La réapparition des conidies dans la descendance de la souche 47, également homothallique et conidiale, montre que la perte de conidies n'est pas un fait définitif. Les spores normales sont en principe unisexuées, les spores de taille supérieure à la normale peuvent engendrer des souches unisexuées ou des souches homothalliques.

III. — Analyse génétique des souches issues des spores de taille ordinaire.

Comme nous venons de le faire pour des souches issues de spores de grande taille, nous suivrons au cours de leur développement ou dans leur descendance quelques souches issues de spores normales.

Dans un certain nombre de cas, l'analyse de la descendance est facilitée du fait que la souche étudiée est homothallique ; dans d'autres, pour que se forment de nouveaux périthèces, la confrontation avec une souche de signe opposé est nécessaire ; on peut alors hésiter sur la véritable origine des périthèces formés et même se demander s'ils ne résultent pas d'une copulation entre les souches rapprochées et s'ils ne doivent pas être tenus, comme le pense DODGE, pour des périthèces hybrides.

Notre méthode de travail est par suite la suivante : Nous isolons des spores de taille normale, nous en obtenons des souches nouvelles dont nous retenons l'ascendance et dont nous suivons le devenir : nous suivons leurs disjonctions éventuelles en cours de végétation, et nous surveillons leur descendance ; celle-ci est obtenue aisément dans le cas de souches homothalliques ; on en provoque la

production dans le cas de souches hétérothalliques par le rapprochement de deux souches de signe opposé.

Envisageons ces deux cas :

Souches homothalliques.

Il est intéressant de constater que des spores de taille normale sont capables d'engendrer des souches homothalliques : c'est le cas des souches, 49, 54, 56, 118, 130, 138, 142, 163.

Les souches 49, 54, 56, sont nées dans des cultures mixtes de souches des familles 10 et 12.

La souche 49 est née d'une ascospore prélevée dans un périthèce d'une culture des souches 16 et 26, du côté de 16. (Voir plus loin Tableau VII). Cette souche 49 est homothallique et dès le début elle a offert dans son mycélium deux parties, une conidiale et l'autre aconidiale. Or, les souches 16 et 26 sont précisément la première conidiale, la seconde asporique, et on pourrait croire que le caractère spécial de la souche 49 est dû à une hybridation entre les deux souches confrontées. Nous reviendrons plus longuement sur ce point dans un instant. On peut penser encore que à la faveur d'une faute opératoire, deux spores ont été prélevées à la fois et ont donné naissance à deux souches confondues sous le même nom de 49 : ces souches seraient de signes contraires et donneraient l'illusion d'une souche homothallique ; l'une serait conidiale, l'autre aconidiale, d'où l'hétérogénéité des cultures. Pour nous rendre compte du bien-fondé de cette manière de voir, nous avons isolé les deux mycéliums, l'un conidial 49 C, l'autre aconidial 49 Ac, de la souche 49 ; tous les deux se sont montrés homothalliques. Nous pensons donc avoir obtenu d'une spore de taille ordinaire une souche instable, rapidement dissociée en deux « variantes », l'une conidiale, l'autre aconidiale, d'ailleurs toutes deux homothalliques.

Une spore ordinaire issue d'une culture mixte des souches 24, asporique, et 25, conidiale, et prélevée dans un des périthèces du côté 24, a donné naissance à une souche désignée sous le numéro 54, aconidiale. et homothallique (voir Tableau VII) ; ses périthèces forment des asques octosporés ; elle n'a rien offert de spécial dans son histoire ultérieure.

La même confrontation des souches 24 et 25 a donné lieu à la formation d'une souche 56 dont l'ascospore originelle, de taille nor-

male, a été empruntée à un périthèce du côté 24 : la souche nouvelle, dite 56, est homothallique et forme des asques octosporés ; dès le début elle se montre en partie conidiale et en partie aconidiale ; il en a été séparé deux mycéliums, l'un 56 Ac, dépourvu de conidies, l'autre 56 C, conidial ; le dernier seul a fourni des périthèces ; peut-être le premier constitue-t-il une « variante » à la fois aconidiale et hétérothallique.

La souche 118, issue d'une spore ordinaire de la variante 12 IV de la souche 12 est homothallique et aconidiale ; il en est de même de la souche 138, originaire d'une spore ordinaire de la souche 10.

Les souches 130 et 142 sont issues de spores de la souche 10, la spore initiale de la souche 142 était légèrement plus grande que les spores ordinaires et pourrait être considérée comme équivalente à une spore double ; 130 dérive au contraire d'une spore plus petite que d'ordinaire. Toutes deux engendrent des souches homothalliques et conidiales.

La souche 163 enfin, résulte de la germination d'une spore ordinaire produite par un périthèce prélevé dans une culture mixte de la souche 21 et du *Neurospora sitophila* souche B de DODGE, du côté 21 (voir Tableau VIII). On se souvient des caractères particuliers de cette dernière : la souche 163 est une souche homothallique, aux asques octosporés, et elle forme des conidies.

Aucune des souches homothalliques précédentes n'a été suivie dans sa descendance ; réduites à ce qui précède, ces observations ont pour intérêt de montrer qu'il n'est pas nécessaire, pour obtenir des souches homothalliques de *Neurospora sitophila*, de partir de spores de grande taille ; des spores de taille ordinaire, pourvues très vraisemblablement d'un seul noyau à leur origine, peuvent être homothalliques. D'autre part, certaines souches homothalliques issues de spores de taille ordinaire paraissent stables (118, 130, 138, 142, 163), d'autres peuvent subir une disjonction de leurs mycéliums en un mycélium conidial et un mycélium asporique (49, 56).

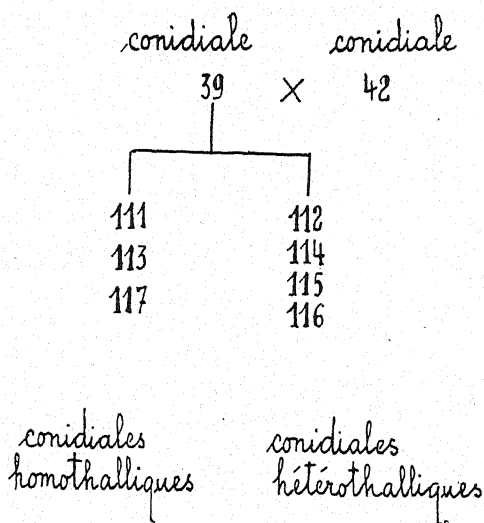
Souches hétérothalliques.

Le plus ordinairement, par le semis de spores de taille normale, on obtient des souches unisexuées, qui se montrent d'une grande stabilité, tant au point de vue du signe dont elles sont affectées qu'à celui du caractère conidial ou asporique de leur mycélium.

Plusieurs d'entre elles ont été rapprochées pour en obtenir des périthèces, dont nous avons isolé des spores et tiré des souches nouvelles ; on peut espérer par l'étude de ces dernières déduire la nature des relations qui se sont établies entre les souches rapprochées ; c'est ainsi que DODGE tire de la connaissance des souches-filles la notion de périthèces hybrides et par suite la notion d'une copulation des souches mises en présence. Il était important que nous cherchions à vérifier l'existence de tels périthèces hybrides.

Le plus généralement, nos expériences ont pris la forme suivante : les deux souches à rapprocher sont repiquées sur moût de maïs gélosé, en boîte de Petri, près des extrémités d'un même diamètre ; les deux mycéliums se développent, envahissent chacun à peu près une

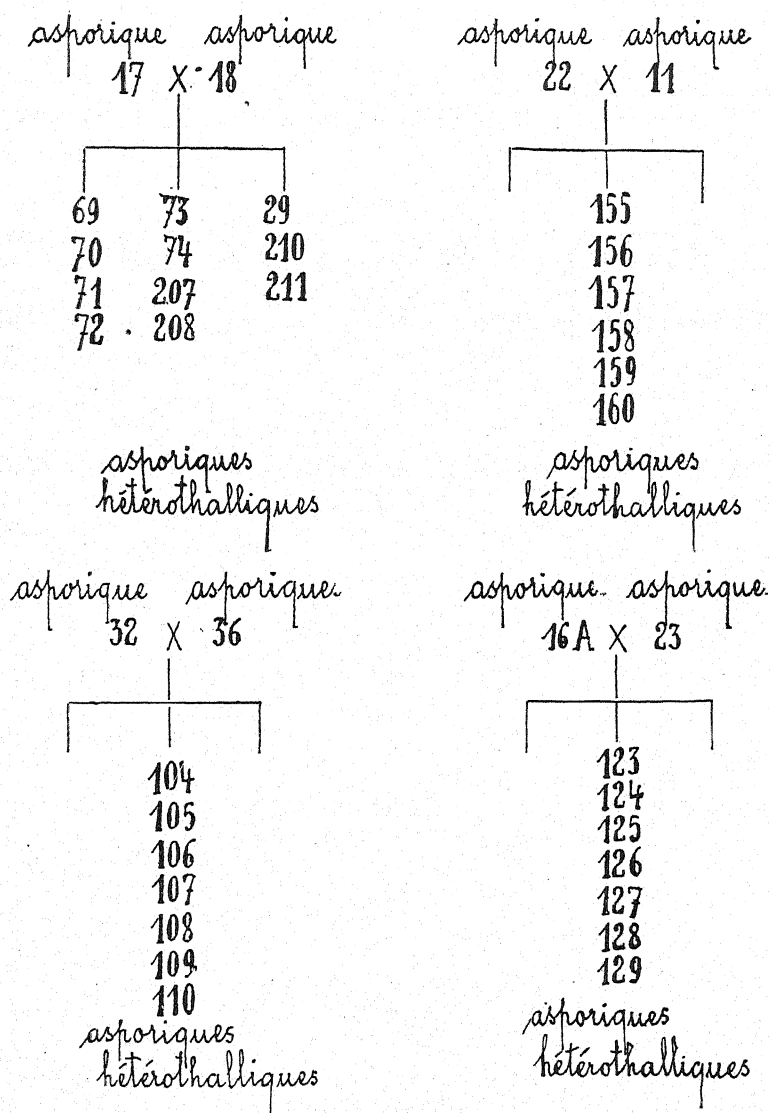
TABLEAU V



moitié de la culture et s'affrontent suivant un diamètre de la culture perpendiculaire au précédent. Les périthèces, s'il s'en fait, apparaissent soit d'un côté, soit de part et d'autre de la ligne de front. On prélève un ou plusieurs d'entre eux en notant le côté de la culture où ils ont été prélevés ; on isole quelques unes de leurs spores dont on obtient des souches nouvelles.

Il peut y avoir intérêt à retenir le côté de la culture qui a fourni le périthèce prélevé, bien que, surtout dans les cultures âgées, il

TABLEAU VI



puisse y avoir un passage des mycéliums confrontés dans la culture toute entière.

Les tableaux V et VI expriment quelques-unes de nos observations ; nous y avons fait figurer les souches appariées, les souches

issues d'elles, et nous avons indiqué ordinairement de quel côté de la culture mixte primitive sont originaires les spores prélevées ; nous y avons enfin indiqué si les souches envisagées sont homothalliques ou hétérothalliques, conidiales ou asporiques.

On peut résumer de la manière suivante les résultats obtenus :

1^o Par la confrontation de deux souches hétérothalliques de signe contraire, toutes deux conidiales, 39 et 42, nous avons obtenu des souches également conidiales, les unes hétérothalliques (112, 114, 115, 116), les autres homothalliques (111, 113, 117) ; la présence de ces dernières est un fait remarquable. Un périthèce prélevé du côté 39 est à l'origine de ces diverses souches (Tableau V).

2^o Par la confrontation de deux souches hétérothalliques de signe contraire, toutes deux aconidiales, on obtient bien généralement des souches également aconidiales.

C'est le cas des confrontations des souches 17 et 18, 11 et 22, 32 et 36, 16 A et 23, toutes aconidiales et dont le rapprochement a donné lieu à la production de souches nouvelles, toutes asporiques et hétérothalliques, indiquées dans le tableau ci-joint (Tableau VI).

Des confrontations semblables à celles-ci ont été réalisées dans des fioles plates présentant pour le semis une large surface de moût de maïs gélosé stérile. On y introduit en nombre indéterminé les spores d'un ou de plusieurs périthèces ; des souches nombreuses naissent dans la fiole ; la culture obtenue est hétérogène et on note les caractères des diverses parties :

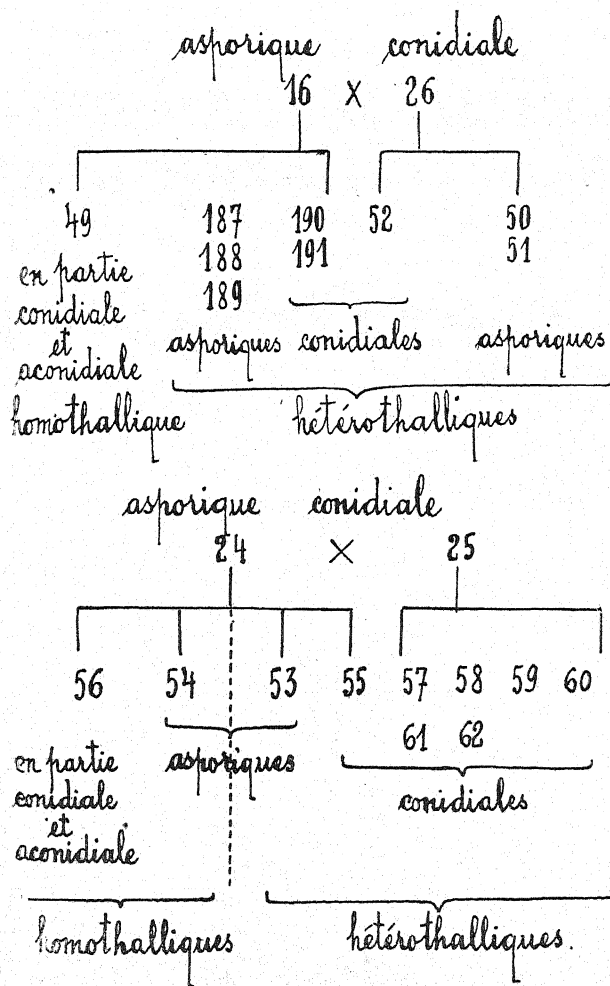
On a semé ainsi des spores empruntées à une culture mixte des souches 22 et 23, du côté de 22 ; toutes deux sont aconidiales ; la culture obtenue forme beaucoup de périthèces, ce qui indique qu'elle est sans doute constituée par un mélange de souches hétérothalliques des deux signes ; elle ne produit aucune conidie. Il en fut de même dans le cas du semis des spores empruntées à une culture où étaient rapprochées les souches 17 et 18, hétérothalliques, de signe contraire, toutes deux aconidiales.

3^o Par la confrontation de deux souches hétérothalliques de signe contraire, l'une conidiale, l'autre aconidiale, on obtient souvent des souches au caractère homothallique ou hétérothallique, dont les unes sont conidiales et les autres aconidiales.

Le tableau ci-après (Tableau VII) exprime les résultats d'un tel appariement entre deux souches, l'une aconidiale, la souche 16,

l'autre, la souche 26, conidiale. Un périthèce emprunté à leur culture mixte, du côté 16, a fourni 3 souches hétérothalliques et aconidiales (187, 188, 189), deux souches hétérothalliques et conidiales (190, 191), une souche (49) homothallique, en partie conidiale et en partie aconidiale, dont nous avons déjà étudié les disjonctions en cours de végétation. Un autre périthèce, prélevé du côté 26 de la même culture

TABLEAU VII

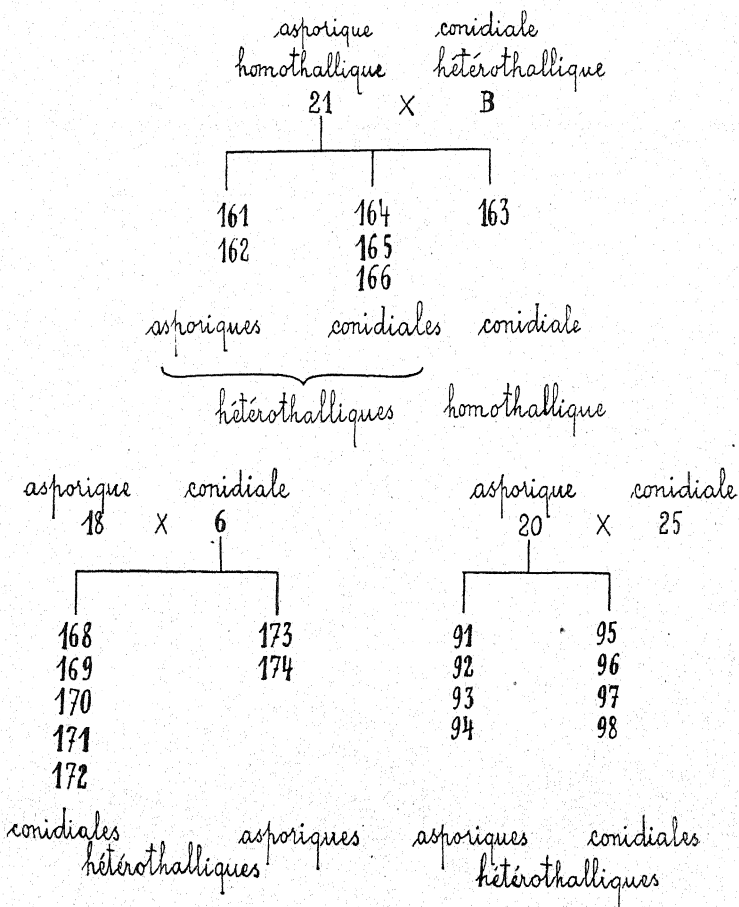


191), une souche (49) homothallique, en partie conidiale et en partie aconidiale, dont nous avons déjà étudié les disjonctions en cours de végétation. Un autre périthèce, prélevé du côté 26 de la même culture

a fourni une souche hétérothallique et conidiale (souche 52) et deux souches hétérothalliques et asporiques (50 et 51).

De même, la confrontation des souches 24 et 25, la première aconidiale, la seconde conidiale, a donné deux séries de périthèces. Ceux du côté 25 ont fourni six souches hétérothalliques, toutes conidiales (57 à 62); ceux du côté 24 ont donné une souche homothallique et asporique (54), une autre homothallique, la souche 56, en partie conidiale, et en partie aconidiale, et dont les disjonctions ont été étudiées plus haut, les autres hétérothalliques, soit une asporique (53) et une conidiale (54 et 55).

TABLEAU VIII



De la même façon, le rapprochement de la souche 21, asporique issue d'une spore géante de la souche 12, et du *Neurospora sitophila* B de DODGE, a donné du côté 21 des périthèces dont les spores ont engendré six souches, une homothallique et conidiale (163) les autres hétérothalliques, savoir trois conidiales (164, 165, 166), deux asporiques (161, 162).

Le rapprochement des souches 18 et 6, la première asporique, la seconde conidiale, conduit à des constatations analogues.

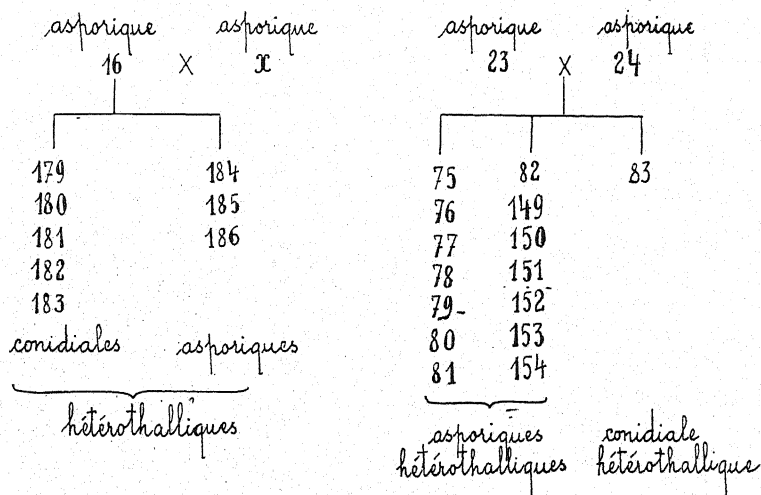
Il en est de même du rapprochement des souches 20 et 25 (Tableau VIII).

Ces faits plaident en faveur d'une hybridation entre les souches rapprochées.

Toutefois, nous avons rencontré des observations discordantes.

Ainsi, la confrontation d'une souche x et de la souche 16, toutes deux asporiques (tableau IX) a donné des souches aconidiales 184, 185, 186, mais aussi cinq souches conidiales (179, 180, 181, 182, 183).

TABLEAU IX



Cette observation a été reprise en fiole plate avec les mêmes résultats. On observe, dans la fiole où ont été placées des spores extraites d'un périthèce prélevé du côté du semis de la souche 16, la formation de périthèces et par places des conidies.

De même, le rapprochement de deux souches asporiques, 23 et

24, fournit de nombreuses souches asporiques (75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 149, 150, 151, 152, 153, 154) et une souche conidiale (83), toutes hétérothalliques (Tableau IX).

De même, des spores sont recueillies dans une culture mixte des souches 32 et 18, de signes contraires, et touffes deux aconidiales ; on les distribue dans trois fioles plates : toutes trois montrent au bout de quelques jours des plages sans conidies et des plages couvertes de conidies.

Ces observations montrent que les faits ne sont pas aussi simples qu'il paraît à première vue et que les souches aconidiales n'ont pas perdu toute possibilité d'engendrer, sans le concours de souches conidiales, de nouvelles souches conidiales.

IV. — Résumé des faits observés.

Nous avons rapporté dans les pages précédentes la manière dont s'héritent le caractère homothallique ou hétérothallique, ainsi que le caractère conidial ou asporique, dans toute une famille de souches de *Neurospora sitophila*, dérivées toutes d'une souche conidiale et homothallique (la souche 10), qui tire elle-même son origine d'une souche américaine (souche B de DODGE) et d'une souche française (souche 6 ou souche de Bordeaux), du signe opposé au sien.

En ne retenant que les cas les plus fréquents, on peut énoncer des règles simples : les spores du *Neurospora sitophila* engendrent des souches hétérothalliques stables ; les unes sont conidiales, d'autres asporiques ; la confrontation des premières entre elles engendre des souches conidiales, celle des secondes donne naissance à des souches asporiques ; la confrontation de souches conidiales et de souches asporiques fournit en mélange des souches des deux types. Ces propositions présentent une grande généralité et possèdent un pouvoir de prévision élevé.

Toutefois, elles cessent d'être applicables dans un certain nombre de cas, dont nous devons tenir compte malgré leur rareté relative.

Les exceptions rencontrées concernent des souches issues de spores de taille supérieure à la normale, formées dans des asques de moins de huit spores et pourvues à leur origine de plusieurs noyaux, et des souches issues de spores ordinaires telles que celles qui se

forment le plus habituellement au nombre de huit par asque, et sont uninucléées à l'origine.

1° Descendance des spores de taille supérieure à la normale (Tableau I). Ces spores, qui correspondent à 2, 3 ... 8 spores ordinaires engendrent parfois des souches conformes à la règle générale, hétérothalliques, stables, conidiales ou aconidiales, mais parfois aussi des souches homothalliques, d'ailleurs conidiales ou aconidiales; ces souches homothalliques sont stables ou sont instables; dans ce dernier cas, leur instabilité se traduit par des variations observables au cours de leur végétation (somations); elles peuvent passer de l'état homothallique à l'état hétérothallique, puis faire retour à l'état homothallique; elles peuvent également se disjoindre en un mycélium conidial et un mycélium aconidial.

Ces mêmes souches, issues de spores de taille plus élevée que la normale, produisent, quand elles sont homothalliques, des spores qui sont le point de départ de souches homothalliques comme la souche-mère, ou hétérothalliques, au contraire de la souche mère, des souches conidiales, même si la souche-mère était asporique, ou aconidiales, même si la souche-mère était conidiale.

Quant les mêmes souches, après avoir fonctionné comme des souches hétérothalliques et s'être montrées affectées d'un « signe » particulier, + ou —, ont fait retour à l'état homothallique, elles fournissent dans ce dernier état des spores initiales de souches qui sont soit homothalliques, soit hétérothalliques, et dans ce dernier cas, les deux signes sont représentés parmi elles.

2° Descendance des spores de taille ordinaire.

Les souches issues de ces spores sont généralement hétérothalliques, mais elles peuvent aussi être homothalliques (Tableaux I et VII); elles sont conidiales ou aconidiales; homothalliques, elles peuvent encore donner lieu à une disjonction végétative en un mycélium conidial et un mycélium aconidial (Tableau VII); elles peuvent aussi faire retour à l'état unisexe.

Dans le cas où ces souches sont hétérothalliques, leur confrontation deux à deux fournit des spores ordinaires, initiales de souches-filles homothalliques ou hétérothalliques; ces souches-filles se sont montrées conidiales ou asporiques; il est remarquable que des souches-filles conidiales ont été obtenues par la confrontation de souches toutes deux asporiques.

Les exceptions précédentes peuvent s'exprimer d'une manière plus rapide de la façon suivante : le caractère conidial ou aconidial s'introduit inopinément, ainsi que le caractère homothallique ou hétérothallique, soit dans la descendance de souches d'un caractère différent, soit au cours de leur végétation ; ces variations se laissent observer chez des souches issues de spores de taille supérieure à la normale, mais aussi chez des souches issues de spores ordinaires. Ces infractions aux règles simples formulées plus haut sont assez fréquentes pour en restreindre la portée ; on ne saurait les négliger pour rechercher une explication des phénomènes observés.

(à suivre)

RÉACTIONS DES FRUITS AUX BLESSURES EXPÉRIMENTALES

par M. Roger ULRICH

(Suite)

CHAPITRE III

RECHERCHES SUR L'ABRICOT

(*Prunus Armeniaca* L.)

1. Le fruit normal.

Dans un jeune abricot [20 mm. (1)], on retrouve, de l'extérieur vers l'intérieur, la même succession de tissus que dans une pêche :

1. *épicarpe* ;
2. *zone sous-épidermique à petites cellules* ;
3. *mésocarpe à grandes cellules* ;
4. *parenchyme à petites cellules* (futur noyau) ;
5. *endocarpe*.

Les chloroplastes sont très nombreux dans la zone 2, moins dans la région 3. Ils sont inclus dans la mince lame cytoplasmique qui entoure la grande vacuole de chaque cellule. L'amidon est rare dans les fruits d'environ 20 mm., où il se rencontre surtout au voisinage des vaisseaux. Plus tard, il disparaît complètement. L'oxalate de calcium forme des oursins assez abondants dans les fruits de 15 à 20 mm. ; on n'en retrouve plus dans les échantillons plus développés (*cf.* NIETHAMMER [174 et 177]). Les phénols sont peu abondants.

(1) Les dimensions correspondent toujours au diamètre transversal maximum du fruit.

En général on n'obtient pas de précipité avec le chlorure ferrique (1); avec le réactif de LINDT, il apparaît fréquemment dans le parenchyme un précipité peu dense, plus abondant autour des vaisseaux. Des sucres réducteurs existent en quantité importante (Liqueur de FEHLING); il s'agirait de sucre interverti mélangé d'ailleurs à du saccharose (BUIGNET [31]).

Le mésocarpe à grandes cellules présente au cours de la maturation la transformation pectique déjà décrite (p.36). En même temps, il apparaît en grande quantité dans les cellules des grains de pigment jaune qui donnent au fruit sa couleur (carotinoïde d'après WEHMER [247]). Les noyaux cellulaires changent d'aspect : ils se vacuolisent fortement ainsi que l'a constaté déjà KISSER [108]. Au cours de la maturation les cellules entrent en nécrobiose. Dans les fruits très murs on peut trouver, dans les vacuoles, des inclusions phénoliques (« Inklusen » : NIETHAMMER [174 et 177]).

A travers le mésocarpe circulent des vaisseaux ligneux spirales. C'est à la limite des grandes cellules (zone 3) et des petites (zone 4) que se trouverait la région génératrice assurant l'accroissement initial du fruit (CAVE [39]).

La lignification du noyau commence trois ou quatre semaines après la floraison d'après STOVE [221]; l'endocarpe prend part à sa formation (LAMPE [126]). Dans les cellules lignifiées, à nombreuses ponctuations, le noyau survit très longtemps (PUCHINGER [196]).

2. L'évolution des tissus normaux en cicatrice.

L'abricot répond aux larges blessures tangentielles par la différenciation de tissus identiques à ceux que nous avons étudiés sur la pêche, aussi cet exposé sera-t-il sommaire. Le même plan sera adopté que dans le chapitre précédent.

A. — *Nécrobiose des cellules superficielles.*

Du premier au troisième jour, c'est surtout la dégénérescence des cellules atteintes par le rasoir que l'on peut constater; leurs

(1) Pour WINCKEL [255] les tanolides des fruits présentent des caractères spéciaux; en particulier ils réagissent mal avec $\text{Fe}^2 \text{Cl}^6$.

membranes se déforment, leur cytoplasme se colore par les colorants vitaux tandis que, dans les cellules sous-jacentes, les vacuoles se colorent vitalement en rose franc par le rouge neutre, en bleu vif

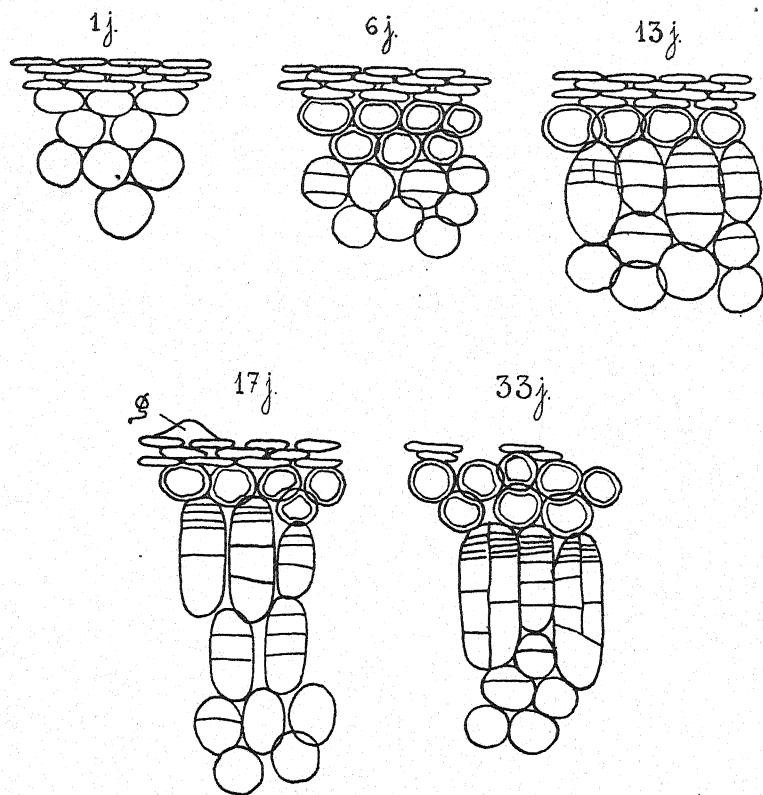


Fig. 16. — Tableau schématique des étapes de la cicatrisation de larges lésions latérales de Pêches. La paroi des cellules ligno-subérifiées est représentée par un trait double. Ces dessins correspondent aux fruits 828-1, 828-2, 828-4, 828-5 et 828-8. *g* : goutte de gomme.

par le bleu de crésyl. Cependant certaines cellules des trois ou quatre couches les plus externes ont une membrane jaunâtre. Vers le huitième ou le dixième jour le parenchyme sacrifié est bien limité vers

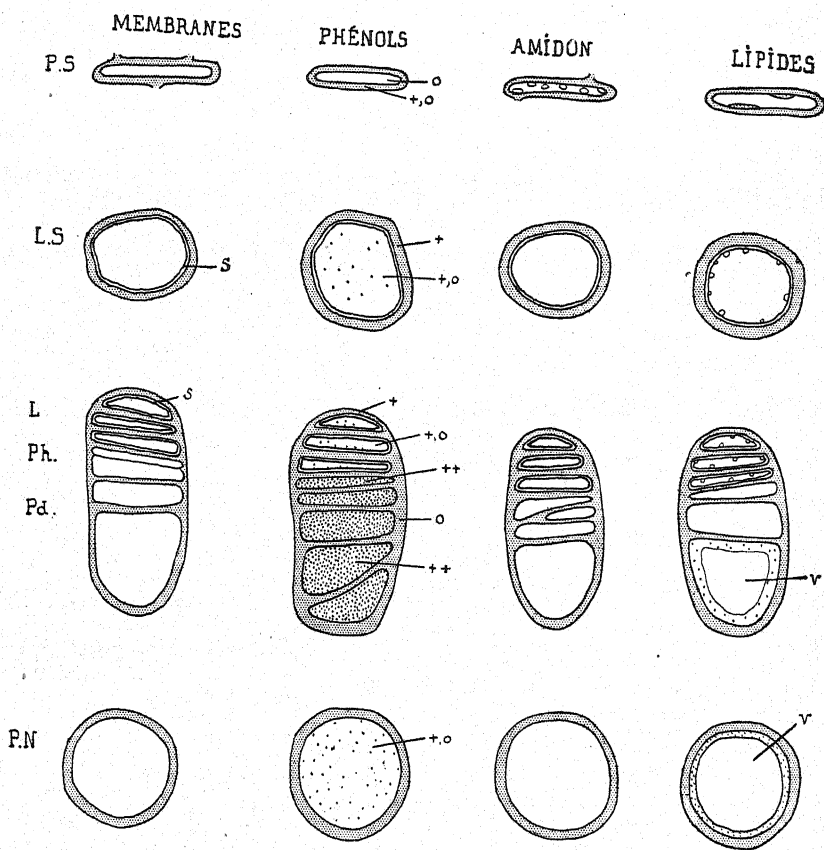


Fig. 17. — Schéma des éléments d'une cicatrice différenciée (Pêche). *PS* parenchyme sacrifié; *LS* cellules ligno-subérifiées; *L* : Liège; *Ph* : phellodème; *Pd* : phelloderme; *PN* : parenchyme normal. *s* : lamelle subéreuse; autour de cette lamelle les membranes sont lignifiées; partout ailleurs, elles sont pecto-cellulosiques. Pour les phénols : 0 signifie absents, + présents, ++ présents ou absents, ++ abondants. L'amidon ne subsiste que dans le parenchyme sacrifié. Les lipides sont caractérisés par l'AP sudan. *v* : vacuole.

l'intérieur par la lame ligno-subéreuse. Ses membranes restent toujours pecto-cellulosiques et colorables en bleu par les réactifs iodés de la cellulose. Lorsque le fruit est opéré jeune et laissé longtemps sur pied, les cellules sacrifiées ont une très forte affinité pour l'hématoxyline qui colore en noir leur lamelle moyenne; les parois du phelloderme et du mésocarpe normal se colorent seulement en gris: la pectose s'y est transformée en pectine (1002-2). Que le réactif utilisé soit l'hématoxyline ou le chloriodure de zinc, on observe donc une coloration plus intense du parenchyme sacrifié qui montre l'influence inhibitrice de la nécrobiose sur l'évolution pectique.

Les cellules mortes ne renferment pas de tanoïde précipitable. Peu à peu, leur écrasement s'accroît; les membranes s'accroissent formant un magma confus dont on ne peut plus voir les éléments constitutifs qu'après traitement par la potasse à chaud. Si le fruit a été opéré en pleine croissance, il naît bientôt au niveau de la cicatrice des tensions qui disloquent la zone nécrosée, mais on en reconnaît toujours les lambeaux grâce à la réaction cellulosique des membranes.

B. — *Différenciation des cellules ligno-subéreuses.*

Vers la fin de la première semaine, la lame ligno-subérifiée est constituée, comportant fréquemment deux couches de cellules (rarement une ou trois) dont les caractères sont identiques à ceux qui ont été décrits précédemment à propos de la Pêche.

Ces cellules sont mortes mais non déformées. Leur membrane est double; elle comporte en effet:

1° l'ancienne paroi pecto-cellulosique brunie et modifiée chimiquement car elle donne les réactions de la *lignine* avec la phloroglucine, le chloriodure de zinc, le soudan, la potasse, le vert d'iode. Il reste encore de la pectose car cette membrane fixe énergiquement l'hématoxyline (1072).

2° à l'intérieur de cette enveloppe primitive remaniée se trouve une fine lamelle néoformée, ondulée, colorable en rouge vif par le soudan, en jaune par la potasse, résistant à l'acide sulfurique concentré et donnant à chaud avec le mélange de SCHULZE des bulles jaunâtres (1006-2): c'est du *liège*. J'ai toujours vu cette lamelle

tapisser complètement l'ancienne paroi, comme si la subérine se déposait en même temps sur tous les points de sa surface.

La lignification au contraire s'étend progressivement. Parfois un hémisphère seulement est lignifié : l'hémisphère interne sur certaines cellules, l'externe sur la couche plus profonde ; il finit ainsi par se constituer une lame ligneuse continue sous la blessure bien qu'elle soit partielle au niveau de chaque cellule (1048).

A la face interne du parenchyme sacrifié, on trouve des cellules dans lesquelles le chlorure de Zn iodé colore une mince lamelle subéreuse brune alors que la membrane primaire est bleue : la subérisation est donc indépendante de la lignification et peut la précéder. Dans les cellules de plus en plus profondes, la teinte bleue précédente passe progressivement au brun foncé caractérisant la lignification (1048).

Lorsque le fruit s'accroît beaucoup au cours de la cicatrisation, la lame ligno-subéreuse se fragmente (1072). Dans ce cas on remarque aussi que les parois des cellules ligno-subéreuses sont beaucoup plus minces que celles du parenchyme normal car celui-ci a subi l'évolution pectique.

C. — *Divisions cellulaires. Phellogène. Phelloderme.*

Une semaine après le traumatisme, on observe déjà des cloisons nouvelles dans les cellules de parenchyme vivantes les plus externes, c'est-à-dire sous-jacentes à la lame ligno-subéreuse.

Les cellules-mères se divisent de façon répétée et s'allongent peu à peu, engendrant des piles de cellules plus ou moins cylindriques. Généralement, plus profondément, une deuxième et même une troisième couche de cellules sont aussi le siège de divisions qui s'arrêtent bientôt.

Au bout d'un certain temps, on peut constater que les divisions sont localisées approximativement dans l'avant-dernier quart externe des cellules-mères. Comme il en est de même dans toute la couche de cellules adjacente à la lame ligno-subéreuse, une zone génératrice continue apparaît.

Les phénomènes de croissance sont intéressants à étudier sur certains échantillons. Par exemple, sur le fruit 1002-2, j'ai observé successivement en partant de la surface (fig. 18, A) :

1° le parenchyme sacrifié et les cellules ligno-subérifiées : *croissance nulle* ;

2° les cellules-mères ayant engendré l'assise génératrice : *croissance orientée* (radialement) *et divisions répétées*.

3° des cellules de parenchyme *non divisées, à peine agrandies*, le traumatisme ayant sans doute interrompu leur croissance ;

4° le mésocarpe normal profond aux cellules sphériques et très grandes : *croissance intense dans toutes les directions*.

Sur ce même fruit (1002-2) dont la cicatrice portait deux pro-

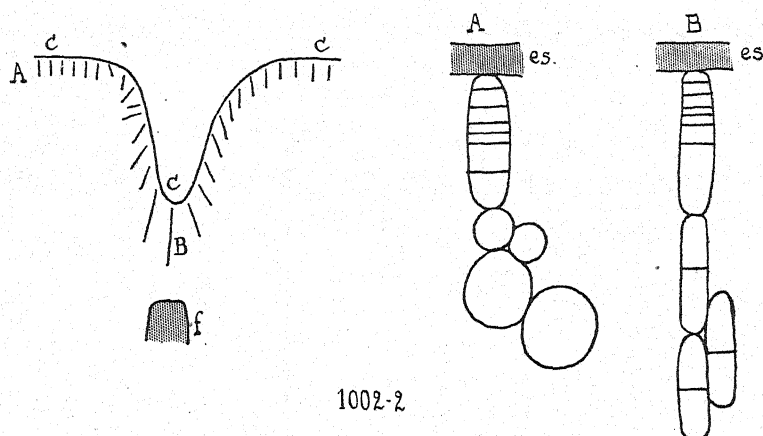


Fig. 18. — Croissance et divisions cellulaires (Abricot).

A gauche, orientation des travées cellulaires ; *ccc* : surface de la blessure ; *f* : faisceau vasculaire ; A et B indiquent les régions correspondant aux deux dessins de droite ; *es* : escarre.

fonds sillons (fig. 1), la direction d'allongement des cellules-mères semble liée aux tensions mécaniques (fig. 18). Au fond du sillon proche d'un faisceau ligneux, le parenchyme a une faible épaisseur ; il a été tiré vers l'extérieur par les tissus notablement accrus des régions latérales et ses cellules se sont étirées et divisées. Ce phénomène apparaît nettement lorsqu'on compare les régions de la coupe situées au niveau des sillons et dans leur intervalle (fig. 18, A et B). Lorsque des tensions de ce genre se réalisent, les travées de phello-derme ne sont plus toutes perpendiculaires à la lésion.

Une autre observation relative aux membranes de cette région se rapporte aux cellules de la zone 3 du tableau ci-dessus. Elles n'ont

pas grandi notablement, elles ne se sont pas divisées mais leurs membranes sont décollées beaucoup plus nettement que dans le mésocarpe profond. Tout se passe comme si, à quelque distance de la blessure, l'évolution pectique des membranes était accélérée par l'excitation traumatique.

Le méristème est souvent plus épais au voisinage des vaisseaux normaux à la blessure ; les longues cellules de parenchyme des faisceaux vasculaires se divisent généralement très activement.

L'accroissement en diamètre du fruit se poursuivant n'entraîne pas la rupture de la zone de méristème comme c'est le cas pour les tissus morts externes. Il détermine des tensions tangentielles reconnaissables à l'aplatissement parfois considérable des cellules (1072).

Les membranes nouvelles sont généralement parallèles à la surface de la blessure ; elles sont plus serrées et plus minces au voisinage de l'assise génératrice. Toutes ces membranes se colorent en bleu par le chloroiodure de zinc alors que sur le fruit évolué les parois des cellules-mères se teintent en jaunâtre dans leur partie moyenne (pectine).

Dans les cellules-mères encore peu cloisonnées, on trouve des chloroplastes, mais lorsque le phellogène est différencié, il forme un étroit liseré incolore. Ses cellules extrêmement plates renferment de multiples vacuoles, car le bleu de crésyl y colore vivement des petites sphères mobiles. Les cellules nouvelles situées plus profondément et nées avant ou après l'individualisation de l'assise génératrice renferment une très grande vacuole colorable par les colorants vitaux (en rose par le rouge neutre, en bleu par le bleu de crésyl). La coloration est accompagnée d'une précipitation beaucoup plus abondante que dans les cellules du parenchyme normal. Cette observation est à rapprocher de la grande richesse en phénols du phellogène et du phelloderme. Leur suc cellulaire précipite abondamment par le chlorure ferrique, le réactif de LINDT, le fixateur de HELLY. Après traitement par le réactif de BRÆMER, les petites cellules montrent de nombreuses bulles fauves qui n'apparaissent pas dans le parenchyme normal. Comme pour la Pêche, il semble impossible de savoir, sans faire appel aux techniques chimiques, si le suc cellulaire renferme un tanoïde, du phloroglucinol, des dérivés oxyflavoniques ou, ce qui est probable, un mélange de ces divers produits phénoliques.

La liqueur de FEHLING détermine dans la même région des coupes (phellogène et phelloderme) un précipité dense d'oxydure.

D. — *Le Liège.*

Lorsque le phellogène est nettement discernable en une zone transparente aux éléments très aplatis, on peut voir à l'extérieur de chaque pile née d'une cellule-mère, la membrane brunie fixer le soudan en rouge. A partir du 17^e jour environ, le liège est plus abondant et formé de plusieurs couches de cellules, parfois très petites par rapport aux cellules du mésocarpe, car ces dernières grossissaient pendant que les cellules-mères se fragmentaient pour engendrer le phellogène. Les membranes du liège sont brunes et minces, celles du phelloderme épaisses et incolores. Les premières se colorent en rouge par le soudan, en violet par le violet de gentiane ammoniacal, en jaune par la potasse; elles donnent des bulles jaunâtres avec le mélange de SCHULZE à chaud, résistent à l'acide sulfurique concentré et fixent l'hématoxyline au niveau de la lamelle moyenne (pectose). Parfois la safranine colore dans la membrane commune à deux cellules trois filets nettement distincts : les deux lamelles subéreuses et la lamelle moyenne lignifiée.

Les cellules du liège les plus proches de l'assise génératrice ont des contours moins nets que les autres et prennent le soudan de façon plus diffuse.

Le liège apparaît nettement sur les coupes traitées par la vanilline chlorhydrique car sa pauvreté en phénols contraste avec l'abondance de ces produits dans le phellogène.

Sur les coupes pratiquées dans un échantillon fixé au mélange de HELLY et postchromisé, le liège renferme de grosses gouttes en apparence identiques à celles que colore l'AP Sudan dans les tissus cicatriciels de la Pêche (1002-2). Le froid et un gros orage m'ayant privé d'abricots l'été dernier, je n'ai pas pu vérifier sur le vivant l'identité des deux formations.

Le liège forme généralement sous la lame ligno-subéreuse une région imperméable continue. Cependant, sur un échantillon opéré au début de sa croissance (1072), le diamètre a augmenté dans de telles proportions pendant la durée de l'expérience (46 jours) que le liège s'est craquelé. Sous les crevasses du liège j'ai observé de

gros grains colorables en bleu-noir par l'iode ; l'amidon était pratiquement absent partout ailleurs.

Les deux figures qui suivent résument d'une façon schématique l'évolution de la cicatrice et sa constitution au moment où tous ses éléments sont différenciés.

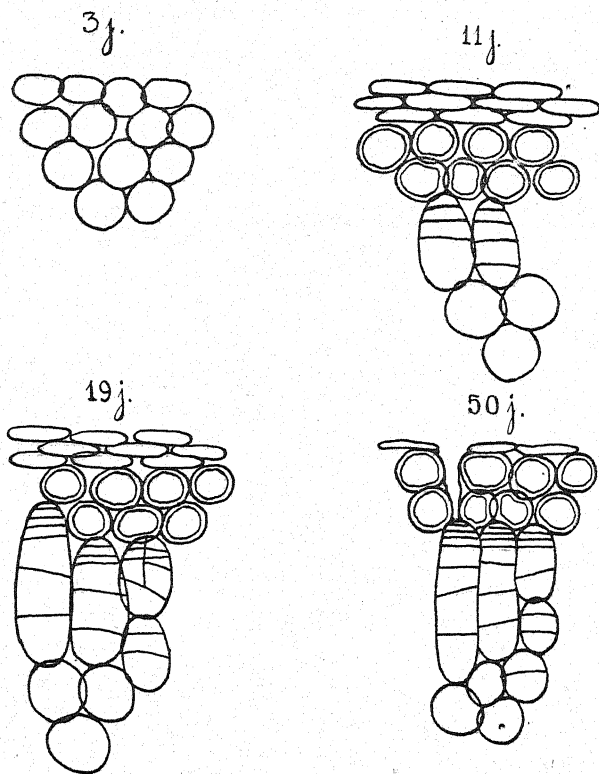


Fig. 19. — Tableau schématique des étapes de la cicatrisation (Abricot ; larges lésions latérales). Les membranes des cellules ligno-subérisées sont représentées par des traits doubles. Les dessins correspondent aux fruits 1032, 1073, 1048, 1002-2.

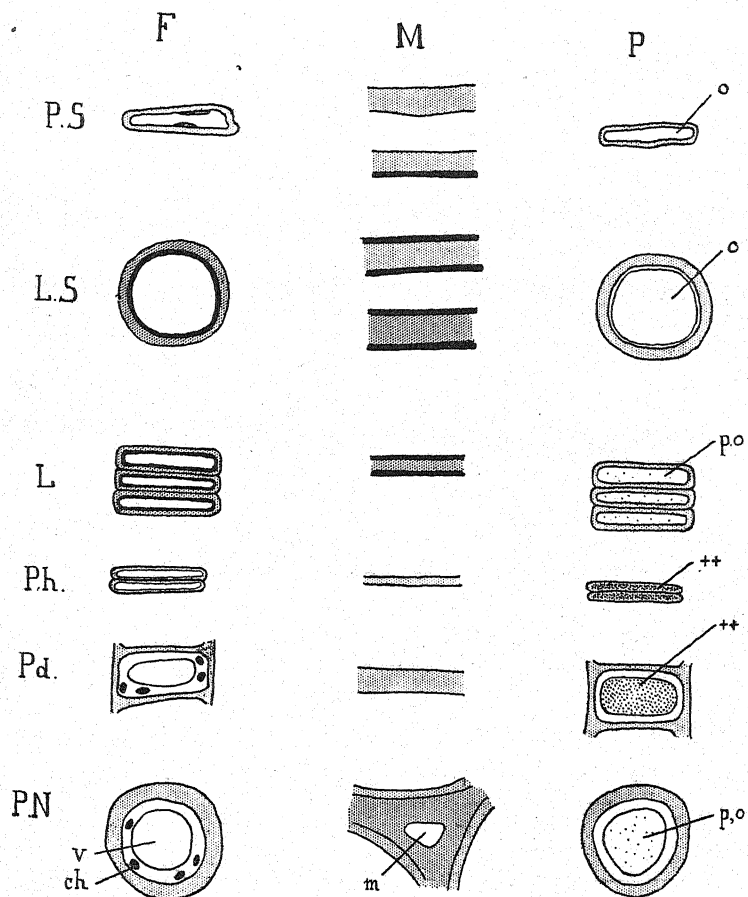


Fig. 20. — Schéma des éléments d'une cicatrice différenciée (Abricot). *F* : forme des cellules ; *M* : détail de fragments de membranes ; *P* : répartition des phénols.

PS : parenchyme sacrifié ; *LS* : cellules ligno-subérifiées ; *L* : liège ; *Ph* : phellogène ; *Pd* : phelloderme ; *PN* : parenchyme normal. En noir : lamelle subéreuse. En gris sombre : membranes lignifiées ; en gris clair : membranes pecto-cellulosiques. Pour les phénols : l'absence, la présence en petite quantité, l'abondance sont représentées par les signes : *o*, *po*, *++*. *ch* : chloroplastes ; *v* : vacuole ; *m* : méat.

CHAPITRE IV

RECHERCHES SUR LE COING

(*Cydonia vulgaris Pers.*)

1. Le fruit normal.

La structure du Coing a été étudiée notamment par GARCIN qui s'est occupé surtout de l'histogénèse ([67], p. 287), ROSENBERG-HEIN [204] et VERTES [238]. La disposition des carpelles et leur soudure avec le réceptacle ont été décrites par MORGENTHALER [165].

Sur un fruit d'au moins 25 mm. de diamètre (1) on peut distinguer nettement les tissus suivants :

1° *épicarpe* dont certaines cellules sont allongées en poils ;

2° *parenchyme sous-épidermique* riche en chlorophylle et en amidon ;

3° *mésocarpe à grandes cellules*, formé d'îlots de sclérites entourés de cellules de parenchyme allongées et disposées en rayonnant autour des paquets lignifiés ;

4° *endocarpe* fibreux.

Les sclérites ne sont pas distincts aussitôt après la floraison. Ils sont nettement différenciés et portent des ponctuations dans les échantillons de 30 mm. Dans les fruits beaucoup plus gros (65 mm. par ex.), la lignine semble avoir disparu dans certains amas, fait observé déjà par ALEXANDROV et DJAPARIDZE [2] sur des coings de Transcaucasie. Avant leur différenciation ligneuse ces sclérites renferment, d'après ROSENBERG, des tanoïdes.

Les cellules parenchymateuses du mésocarpe sont allongées et

(1) Les dimensions indiquées correspondent toujours au diamètre transversal maximum du fruit.

riches en phénols. Ce sont les « Gerbstoffschläuche » décrits par WINCKEL [255], reconnaissables à leur réfringence et à la précipitation de leur contenu par la vanilline chlorhydrique, réaction qui permettrait de conclure à la présence de phloroglucotanoïdes. Remarquons que le phloroglucinol lui-même est peut-être présent. JOACHIMOWITZ [102] a noté l'abondance fréquente de ce phénol chez les Rosacées mais il ajoute prudemment que son réactif ne met peut-être en évidence que des tanoïdes. J'ai observé dans les cellules de Coing des précipités denses avec Fe^2Cl^6 , avec l'iode (réaction de SPERLICH), un précipité brun rougeâtre avec la potasse, blanc avec la caféine, des bulles ou des précipités bruns avec le mélange de BRÆMER. La présence des tanoïdes est donc certaine, mais ils sont mêlés sans doute à des dérivés oxyflavoniques et peut-être au phloroglucinol. Dans les fruits âgés au moins (40-50 mm.), les cellules renferment des bulles brunes de dimension variée correspondant probablement à des « inclusions » phénoliques.

L'amidon d'abord rare dans le fruit jeune (ex : 10-15 mm.) devient abondant plus tard (40-60 mm. env.) et diminue à l'approche de la maturité.

L'oxalate de calcium (oursins) abonde dans les fruits de moins de 20 mm. ; on n'en retrouve plus dans la suite du développement.

La réduction énergétique de la liqueur de FEHLING par les coupes peut être due aux tanoïdes mais aussi aux sucres réducteurs présents : dextrose, lévulose, qui accompagnent le saccharose (WEHMER [247]).

Les membranes du mésocarpe présentent des ponctuations abondantes.

L'évolution pectique a été décrite et figurée avec soin par ROSENBERG-HEIN [204] ; il a observé sur les fruits presque mûrs d'environ 8 cm. la liquéfaction des lamelles moyennes, l'isolement des cellules de parenchyme et la formation de pectine dépourvue d'affinité pour les colorants, mais entraînée par chauffage dans une solution de saccharose à 65-70%. Dans les méats, l'enduit pectique forme parfois des verrues. La richesse en composés pectiques du fruit mûr est d'ailleurs connue depuis longtemps. A l'approche de la maturité au moins, les membranes se colorent en bleu-gris par le réactif de ZIEGENSPECK ; elles sont donc callosiques (KASSEL-MANN [106]). Rappelons que la graine est limitée par un tégument externe très riche en mucilage cellulosique (MORGENTHAUER [165]).

2. L'évolution des tissus normaux en cicatrice.

A. — Nécrobiose des cellules superficielles

Comme dans les espèces déjà étudiées, les cellules exposées à l'air par suite de l'ablation d'une partie du fruit perdent leur turgescence et se contractent. Des vaisseaux spirales se déforment. Il se constitue une croûte brune formée de membranes écrasées enserrant des débris cytoplasmiques, des sclérites, des fragments de

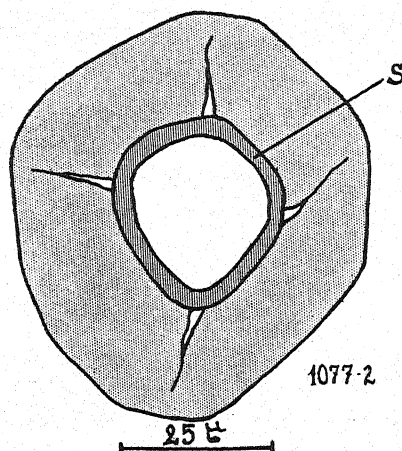


Fig. 21. — Sclérite subérifié (Coing). s : lamelle subéreuse.

spirale, des grains d'amidon. Lorsque le fruit a été opéré jeune, on trouve çà et là parmi les cellules mortes des oursins d'oxalate (815-1). Parfois l'amidon disparaît de la région sacrifiée lorsque le fruit reste très longtemps sur pied (1077-2) ; il est sans doute digéré par des saprophytes. Les tanoïdes manquent tandis qu'ils abondent dans les tissus voisins. Enfin dans cette région mortifiée, les sclérites peuvent se délignifier (840-2, 1065-2) car il arrive qu'ils ne se colorent plus par la phloroglucine chlorhydrique (1).

(1) La délignification des sclérites de coing a été constatée dans des circonstances différentes par ALEXANDROV et DJAPARIDZE [2] : l'acidité du milieu intervient peut-être ainsi qu'une diastase délignifiante (ALEXANDROV [1] et [2]). Il semble que des champignons saprophytes pourraient bien être responsables de la délignification dans les cas rapportés ici (cf. LUTZ [136]).

B. — *Différenciation des cellules ligno-subéreuses.*

Elles présentent lorsqu'elles sont constituées les mêmes caractères que chez les espèces précédemment étudiées : rigidité, lignosu-

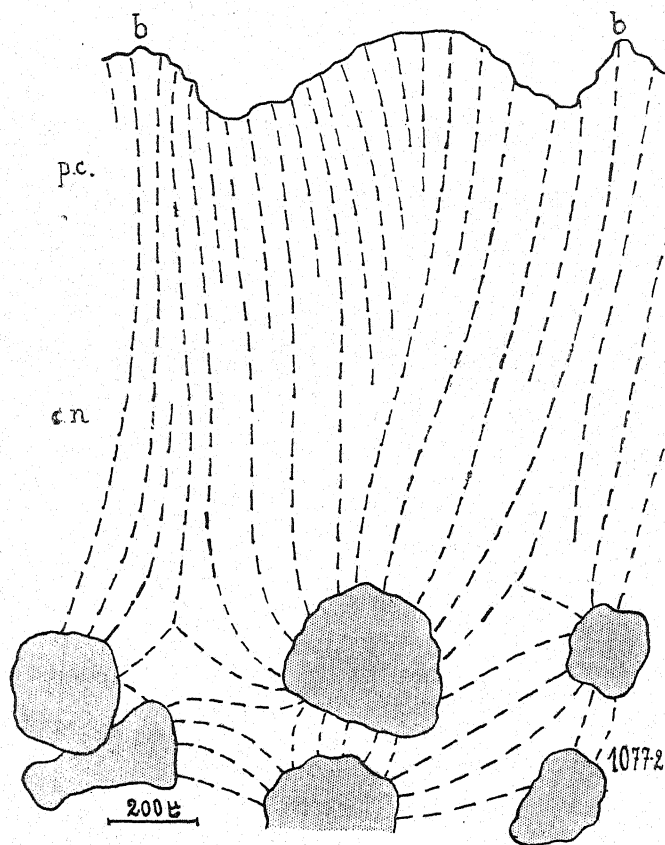


Fig. 22. — Travées cellulaires au voisinage d'une lésion (Coïng). Les lignes discontinues représentent les axes des piles de cellules. *bb* : surface de la blessure ; *pc* : zone des petites cellules du méristème ; *cn* : cellules allongées du parenchyme normal. En grisé, paquets de sclérites.

bérisation et coloration brune des parois. L'ancienne membrane donne les réactions de la lignine et une fine lamelle néoformée, interne, possède les propriétés du liège. Ces cellules sont peu distinctes sur les fruits laissés longtemps sur pied car la croissance a

fragmenté la lame ligno-subéreuse. Les sclérites situés au niveau de celle-ci peuvent former eux aussi une fine lamelle de liège (fig.21).

C. — *Divisions cellulaires. Phellogène. Phelloderme.*

Dès la fin de la première semaine, on trouve des cloisons nouvelles dans les cellules sous-jacentes à la lame ligno-subérifiée. Comme on l'a vu déjà, les divisions apparaissent dans plusieurs cou-

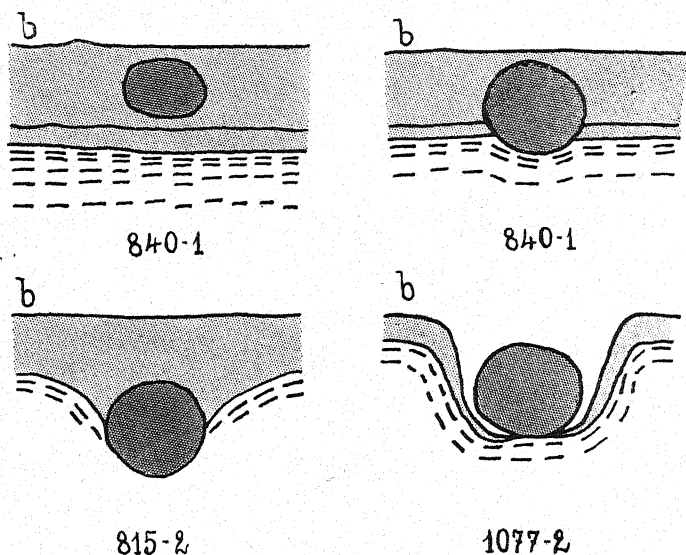


Fig. 23. — Disposition du phellogène au voisinage des sclérites (Coing). Les cloisons tangentiellees sont seules représentées. *b* : surface de la blessure. En grisé clair : l'escarre ; en grisé sombre les paquets de sclérites.

ches de cellules mais se répètent plus activement dans les cellules-mères externes et finalement, dans celles-ci, à un niveau bien déterminé ; ainsi naît le phellogène.

Dans le mésocarpe normal, les travées cellulaires sont orientées en divergeant autour des paquets de sclérites. Les blessures apportent une perturbation à cette disposition rayonnante. Les cellules vivantes voisines de la lésion donnent en se divisant des files de petites cellules presque normales à la surface (fig. 22).

Les paquets de sclérites des tissus morts externes, gênent le

développement de l'assise génératrice; celle-ci est discontinue à leur niveau ou les contourne (fig. 23). Dans ce dernier cas, les cloisons récentes ne sont plus parallèles à la surface de la blessure; elles manquent d'ailleurs fréquemment sous le paquet scléreux.

Les sclérites ne semblent pas capables de se délignifier pour se diviser ensuite.

Les membranes nouvelles sont pecto-cellulosiques, elles se colorent en bleu par le chloriodure de zinc tandis que, sur les

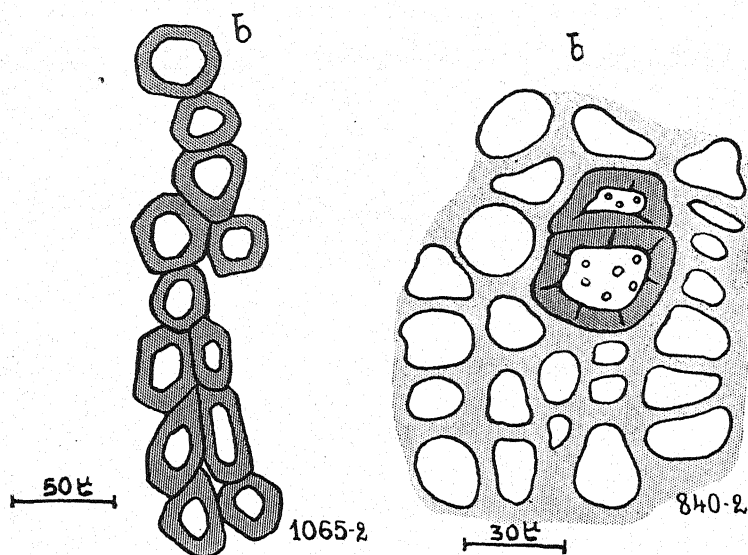


Fig. 24. — Sclérites dans la zone des divisions (Coing). Les lettres *b* indiquent la situation de la blessure par rapport aux tissus représentés. La paroi des sclérites est figurée en grisé sombre.

fruits évolués, les parois des cellules-mères ont subi l'évolution pectique et se colorent en jaunâtre par le même réactif (1077-7). Le phelloderme, très épais dans les vieilles cicatrices, peut renfermer des oursins d'oxalate (815-1). Chacun de ses éléments est occupé par une grande vacuole colorable vitalement et entourée par le cytoplasme pariétal qui englobe de petits chloroplastes. Les cellules de l'assise génératrice, plus petites, montrent après action du bleu de crésyl de multiples vacuoles sphériques (1065-2) et un gros noyau. Phellogène et phelloderme accumulent dans leur suc cellulaire des

phénols précipitables par les réactifs de BRÆMER, de LINDT, par $\text{Fe}^{\text{a}}\text{Cl}^6$ et par l'iode. Sur les préparations fixées au BOUIN, ils apparaissent en précipités granuleux ou en boules, en éponges, en réseaux fixant les colorants. La liqueur de FEHLING donne, à chaud, un précipité d'oxydule abondant dans les cellules du phellogène. Parfois l'amidon s'observe en grande quantité dans le phelloderme comme dans le mésocarpe normal alors qu'il manque dans les tissus morts externes. Cette disposition inverse de celle que nous avons rencontrée ailleurs montre que le phelloderme peut fonctionner comme organe de réserve.

L'aspect de certaines coupes permet de supposer que le phelloderme est capable de se différencier en sclérites (fig. 24).

D. — *Le Liège.*

Il apparaît de très bonne heure ; dès que le phellogène est différencié, le liège est lui-même reconnaissable et forme une couche de cellules à membranes minces et brunes. Plus tard, de nouvelles assises s'y accolent, mais le liège reste toujours très mince comparativement au phelloderme. Il constitue sur les vieilles cicatrices (1077-7) un liseré brun rouge entre le parenchyme sacrifié brun et le phellogène incolore. Le liège différencié est très voisin de l'assise génératrice : ses cellules grandissent un peu avant de mourir. Les membranes donnent les réactions caractéristiques de la lignine et du liège avec la potasse, le chloriodure de zinc, la phloroglucine, le soudan. Les cellules du liège sont parfois bourrées d'une substance brun rouge.

CHAPITRE V

RECHERCHES SUR LES FRUITS DE PIVOINE

(*Paeonia arietina* Anders. et *P. corallina* Retz.).

1. Les fruits normaux.

Le fruit de Pivoine a été étudié par CAYE [39]. Sans spécifier de quelle espèce il s'agit, l'auteur note rapidement dans son mémoire la structure foliaire du péricarpe (p. 155) et il reproduit sur la fig. 15 la coupe d'un jeune fruit pourvu de cellules allongées à parois ponctuées.

LONAY [133] a décrit et figuré la structure des péricarpes de *P. officinalis* et *P. arietina* semblables d'ailleurs en tout point. Il a noté rapidement les divers types de tissus indiqués ci-dessous.

Précisons sur les espèces étudiées dans ce travail les données sommaires des auteurs précédents.

Le follicule de *P. corallina* comprend :

1° un *épicarpe* cutinisé dépourvu de poils et comportant des stomates ;

2° un *parenchyme compact* collenchymateux formé de cellules à grande vacuole, limitée par une lame cytoplasmique renfermant des chloroplastes nombreux et gros. Cette partie externe du mésocarpe est traversée par des faisceaux vasculaires renfermant des vaisseaux spirales dirigés radialement. Des cellules allongées aux parois lignifiées et ponctuées accompagnent ces vaisseaux et leur font suite en direction de l'épicarpe. Cette disposition est exactement la même que celle qu'HABERLANDT [85] a représentée dans son traité d'Anatomie (« Speichertracheiden » d'*Euphorbia splendens* p. 365, fig. 151) ;

3° un *parenchyme lacuneux* plus pauvre en chlorophylle rapelant le tissu spongieux foliaire (LONAY [133]) ;

4° l'*endocarpe* rouge violacé formé de cellules allongées riches

en composés anthocyaniques. Les membranes se lignifieraient tardivement (GARMS [68], p. 507).

Les tanoïdes abondent dans toutes les parties du fruit mais particulièrement dans les couches les plus externes ; ils précipitent avec le chlorure ferrique, le fixateur de MEVES, le mélange de BRÆMER (précipité brun).

L'amidon est absent ou rare.

L'oxalate de calcium en oursins abonde.

Les noyaux cellulaires renferment un ou plusieurs nucléoles et de nombreuses granulations chromatiques (chromocentres) ; conformément aux observations d'EICHORN [58], ce dernier caractère est lié à la forme allongée des chromosomes ; ceux-ci sont relativement très gros.

Chez *P. arietina*, on retrouve la même structure sauf que les cellules épidermiques sont allongées en poils : le fruit est velu.

2. La cicatrisation des lésions latérales.

chez *Paeonia arietina* Anders.

Nous allons retrouver chez les Pivoines les mêmes phases essentielles de la cicatrisation que chez les espèces précédemment étudiées, mais les dimensions relativement grandes des noyaux et des plastes permettront d'apporter quelques précisions cytologiques.

A. — *Le parenchyme sacrifié.*

Déjà huit heures environ après l'opération, les cellules superficielles ont un contenu contracté bien que les membranes ne soient pas déformées ; bientôt des cellules s'aplatissent et au bout d'une journée on constate un affaissement de la surface lésée, gêné cependant au niveau des vaisseaux. La déformation se poursuit mais, comme les tissus sous-jacents conservent leurs dimensions normales, l'aplatissement n'est possible que dans la direction perpendiculaire à la lésion (fig. 25).

Finalement le parenchyme sacrifié forme une croûte compacte (760). Dans la partie lacuneuse interne du mésocarpe, l'épaisseur

du tissu sacrifié est toujours plus grande que dans la région compacte. Dans ce tissu lacuneux, les cellules peuvent, ou bien s'aplatir, ou bien se contracter à la fois dans toutes les directions. Dans ce dernier cas s'ouvrent de nouvelles communications entre les lacunes du mésocarpe et le milieu extérieur.

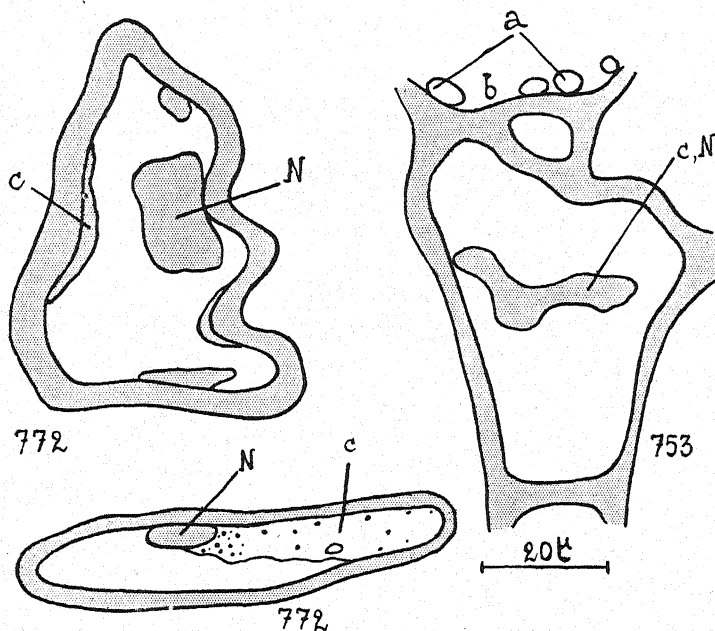


Fig. 25. — Cellules du parenchyme sacrifié (*P. arietina*). *c* : débris cytoplasmiques ; *N* : noyau ; *a* : amidon ; *b* : surface de la blessure.

Cette zone sacrifiée donne sa couleur à la cicatrice : d'abord verte, celle-ci devient brune et même noirâtre (760-2).

Le réactif de BRÆMER ne donne plus de précipité appréciable dans les cellules sacrifiées déjà au bout de 24 heures alors que le tanin est abondant ailleurs (1043-1). Sur matériel fixé au liquide de MEVES, on peut observer dans cette même région des sortes de laques grises tandis que le fixateur précipite en granulations le contenu vacuolaire normal.

Les lambeaux cytoplasmiques morts fixent énergiquement l'hématoxyline.

Le changement de couleur de la cicatrice du vert au brun

correspond pour une part à l'altération de la chlorophylle. Les chloroplastes sont déformés sur les coupes de façon variée ; tantôt ils sont homogènes mais hypertrophiés et de forme irrégulière, tantôt ils sont plus ou moins vacuolisés (fig. 26).

Comme chez les autres espèces étudiées, le parenchyme sacrifié, d'abord réduit à une couche de cellules croît peu à peu en épaisseur jusqu'à la différenciation de la lame ligno-subéreuse (4^e jour environ). Mais avant de mourir certaines cellules peuvent présenter

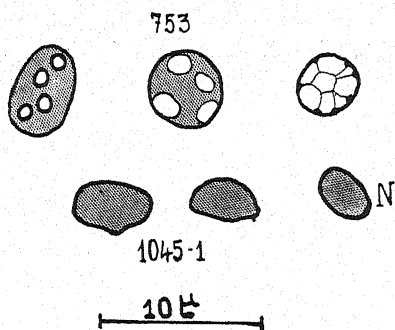


Fig. 26. — Plastés altérés (*P. arietina*) (BOUIN-Hématoxyline). En haut, 3 chloroplastes vacuolisés. En bas, deux chloroplastes déformés et un chloroplaste normal : N.

des déplacements du noyau ou des chloroplastes. J'en ai observé sur un fruit (1043-4) deux jours après la blessure tandis qu'aucun déplacement certain ne pouvait être relevé ni 8 heures ni 24 heures après le traumatisme. Parfois dans les cellules du parenchyme compact très voisines de la lésion, le noyau et les plastés sont accolés à la paroi externe, entraînés par la plus grande partie du cytoplasme qui est venue s'accumuler là (fig. 27). Dans d'autres cas, le noyau ne semble pas avoir bougé mais les plastés se sont groupés autour de lui. Enfin, dans certaines cellules mortes, plastés et noyau forment un amas difficile à analyser, accolé à la paroi externe de la cellule.

La mort des cellules est accompagnée de dégénérescences nucléaires dont on peut suivre les étapes en examinant différentes couches de cellules de l'intérieur du fruit vers la surface de la blessure ; on peut observer par exemple la succession suivante après coloration par la safranine et le glychémalun (758) :

1^o les noyaux normaux les plus internes sont rouges, parsemés de granulations sombres (chromocentres) ;

2° vers l'extérieur on passe à des noyaux rouges encore vaguement granuleux ;

3° puis la masse nucléaire toujours sphérique se contracte et se colore en rouge vif par la safranine (pynose) ;

4° enfin le noyau pycnotique se déforme.

Dans certains cas, les noyaux des cellules voisines des vaisseaux semblent plus résistants que les autres à la dégénérescence.

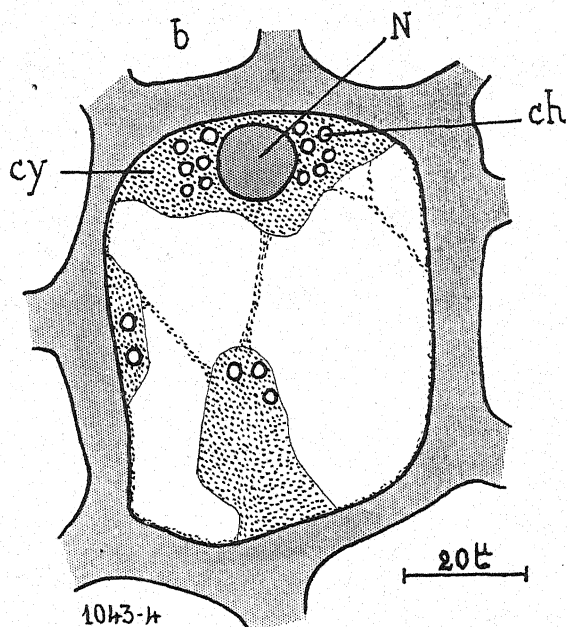


Fig. 27. — Déplacement du noyau et des plastes (*P. arietina*) Fix : REGAUD.
N : noyau ; ch : chloroplastes ; cy : cytoplasme ; b indique l'emplacement de la surface de la blessure.

Les membranes du parenchyme sacrifié restent pecto-cellulosiques.

Certains vaisseaux circulant dans la région mortifiée se bouchent rapidement par un tampon safraninophile moulant leur cavité (1043-4).

(à suivre)

BIBLIOGRAPHIE

PAVILLARD (J.). — *Eléments de Sociologie végétale (Phytosociologie)*.
1 vol. in-8, 99 p., 6 fig., 1 pl. Paris, Hermann et C^e, 1935.

On connaît l'important développement de la Géographie botanique depuis que de HUMBOLDT, puis DE CANDOLLE, établirent, il n'y a guère plus d'un siècle, les fondements de cette science nouvelle. Sous la dénomination plus moderne de Phytosociologie, le P^r Pavillard dont on connaît l'autorité en la matière, s'est proposé de résumer les principaux résultats des recherches récentes sur cette question.

Le premier chapitre de son livre est consacré à la morphologie de la végétation, c'est-à-dire à l'organisation des groupements végétaux. L'auteur examine successivement leur stratification, leur périodicité, leur vitalité, leurs stations, ainsi que les questions de dominance, de densité, d'abondance, de dispersion, de sociabilité et de fréquence. Comparant les notions d'espèce et d'association végétale, il montre que, de même que la première est représentée dans la nature par des individus, la seconde se manifeste par l'existence de parcelles de végétation auxquelles il propose précisément de donner le nom d'individus d'association. Puis, il expose les notions de constance, d'homogénéité, de fidélité. Le second chapitre traite de la synchorologie. On y trouvera successivement envisagés : l'endémisme, les zones et étages de végétation, les complexes de groupement ainsi que des notions succinctes de cartographie. Dans le chapitre III, consacré à la synécologie, l'auteur étudie d'abord les facteurs cosmiques : thermique et photique ; puis atmosphériques : vent ; et hydriques : état hygrométrique et pluie ; ensuite édaphiques : exposant rapidement les divers procédés d'analyse mécanique et chimique du sol. Il traite ensuite des formes biologiques et de leur classification d'après RAUNKIAER. Le chapitre IV s'occupe de la syngénétique : des successions de flore et de leurs procédés d'étude : directs (méthodes des carrés) et indirects. L'examen des documents historiques dont nous disposons pour ce travail le conduit à nous parler des analyses polliniques et de leurs modes de représentation. Enfin dans le dernier chapitre qui traite de la systématique phytosociologique, on lira avec intérêt ce qui a trait aux sous-associations, facies, fragments d'association, ainsi qu'aux unités supérieures : alliances, ordres, classes, cercles de végétation et aussi au vocabulaire des géobotanistes.

Ad. DAVY DE VIRVILLE.

M. A. REYNAUD-BEAUVERIE. — Le Milieu et la Vie en commun des plantes. Notions pratiques de phytosociologie. 1 vol. in-8, 237 p. et 50 fig. Paris P. Lechevalier, 1936. Prix : 60 francs.

Nous ne saurions assez dire tout le bien que nous pensons de cet excellent ouvrage où on trouvera parfaitement résumés et clairement exposés les principes et les techniques fondamentales de la Géographie Botanique.

La première partie de ce livre est consacrée à l'association végétale. Après avoir rappelé l'objet de la Phytosociologie et montré l'existence de groupements végétaux caractérisés par une physionomie particulière toujours identique, l'auteur expose les méthodes d'étude floristique, puis phytosociologique de la végétation. Il définit l'association végétale, décrit l'analyse phytosociologique, montre comment il faut choisir les individus d'association, expose la méthode des carrés d'essai, nous parle des caractéristiques d'associations et montre l'utilité pratique de leur étude (reboisement, fixation des dunes, etc.) Il donne ensuite quelques exemples de relevés phytosociologiques choisis dans la tourbière, la forêt, la prairie. Il expose ensuite la méthode statistique ainsi que le vocabulaire systématique, donnant un suggestif tableau synoptique des différentes terminologies phytosociologiques.

La seconde partie s'occupe de la synécologie, autrement dit des rapports des facteurs du milieu et des associations. Un des plus importants est le climat. L'auteur nous indique les procédés les plus modernes et les plus pratiques pour mesurer la température, l'éclairement, l'humidité, le vent, les précipitations : et surtout il en profite pour préciser un certain nombre de notions indispensables au phytogéographe : influence de l'altitude, de la nébulosité, du rayonnement, du relief du sol et de la végétation sur la température ; action de la lumière et de l'évaporation sur les associations végétales, etc. Vient ensuite l'étude du substratum : d'abord le sol : facteurs qui agissent sur sa formation, classification mesure du ph, du calcaire, des sels, de la pression osmotique, de la perméabilité, de la température ; étude de leur flore et de leur faune ; puis l'eau : pH, lumière, température, gaz dissous. On absorbe alors l'examen des facteurs topographiques en particulier l'influence de l'inclinaison du sol sur la végétation. On passe ensuite aux facteurs biotiques : à l'étude de la concurrence des végétaux entre eux et à celle de l'action de l'homme sur la flore. Cette partie se termine sur la description des diverses formes biologiques : phanérophytes, chaméphytes, hémicryptophytes, géophytes, hydrophytes, thérophytes et des spectres biologiques.

La syngénétique ou étude du développement et de la succession des associations, puis la synchronologie ou histoire de ces successions

et enfin la synchorologie, c'est-à-dire la distribution géographique des associations font l'objet des derniers chapitres de ce magistral ouvrage.

Ad. DAVY DE VIRVILLE.

STEHLÉ (H.). — Flore de la Guadeloupe et Dépendances. Essai d'écologie et de géographie botanique. 1 vol. in-8, XIII-284 p., nombreuses planches et 1 carte. Publié à l'occasion du Tricentenaire des Antilles. Basse-Terre, 1935.

Dans cet ouvrage, l'auteur s'est proposé de nous faire connaître la répartition géographique des plantes de la Guadeloupe et de nous présenter les principaux groupements végétaux caractéristiques de cette île. Il y a si parfaitement réussi que nous n'hésitons pas à proposer ce travail comme un modèle qui devrait bien être imité dans nos diverses Colonies.

Dédié au R.P. Quentin dont on connaît la haute compétence en floristique guadeloupéenne, préfacé très originalement par le P^r Künholtz-Lordat, le livre s'ouvre sur une esquisse géographique de la Guadeloupe à laquelle fait suite une étude de l'origine et de l'évolution de la flore, suivie d'un aperçu historique des recherches qui y ont été entreprises. Puis sont examinées les modifications de la végétation, leurs causes et leurs processus, ainsi que l'action de l'homme.

L'auteur passe ensuite en revue les diverses régions : D'abord la région inférieure comprise entre 0 et 500 m. et qui comprend trois domaines. Dans le domaine maritime, où, il distingue trois secteurs : 1^o immergé ; 2^o de la mangrove ; 3^o émergé dont il fait connaître successivement la végétation, les modifications qu'elle présente, ainsi que les relations qu'il a observées entre les divers groupements.

Le domaine littoral comprend : 1^o le secteur des plaines latéritiques et humides de la « Côte du Vent » caractérisé, en particulier, par l'association à *Mariscus-Fuirena* ; 2^o le secteur pierreux et aride du littoral Sous-le-Vent avec ses taillis à *Acacia*, ou à *Croton basalmifer*, ou à Cactacées et Agaves, et ses savanes à *Andropogon*.

Le domaine intérieur comprend : 1^o le secteur des plateaux et mornes calcaires caractérisé par des halliers à Légumineuses-Mimosées, des bosquets à Bois-Vinettes, Lépineux, Acomats, Poiriers et Mapous ; 2^o le secteur des mornes et coulées basaltiques ; 3^o le secteur aquatique ; 4^o le secteur des cultures : Cannes-à-Sucre, Bananiers, Caféiers, Cacaoyers, Cotonniers, etc. : et l'auteur en profite pour étudier les rudérales, les messicoles, les post-culturelles, les praticoles, les pelouses xérophiles et semi-hygrophiles, et les plantes des routes, chemins et sentiers, ainsi que les épiphytes.

La région moyenne est comprise entre 500 et 1.000 m. descendant même parfois un peu plus bas. Elle est entièrement occupée par la

forêt aux aspects d'ailleurs très variés. L'auteur distingue : la forêt primaire, la forêt primaire dégradée et la forêt secondaire. Puis il étudie la composition floristique des lisières et celle des abords des cours d'eau.

Quant à la région supérieure qui va de 1.000 à 1.484 m. d'altitude, sa végétation dérive de la forêt : mais elle est très modifiée non seulement par les facteurs écologiques, mais surtout par les actions volcaniques intenses, en particulier dans le Massif de la Soufrière. On rencontre ainsi successivement : 1° la forêt de transition (*Clusietum*) ; 2° le secteur des plantes montagneuses (*Lobelietum* et *Pitcairnetum*) ; 3° les marécages de montagne (*Eleocharidetum*) ; 4° le secteur des plateaux et sommets volcaniques (*Sphagnetum*) presque entièrement dépourvu de Phanérogames qui occupe tous les sommets de l'île.

La vente récente à la Guadeloupe d'une Mission du Muséum sous la direction du P^r ALLORGE (à l'obligeance duquel nous devons d'avoir connu la présente publication), a permis fort heureusement à l'auteur d'ajouter un chapitre sur la flore marine dû à nos amis : J. FELDMANN et Rob. LAMI. Ceux-ci distinguent la végétation des facies rocheux et meuble et celle de la mangrove.

D'excellentes photographies, parfaitement reproduites, nous permettent de nous faire une idée très précise des principaux aspects de la flore de la Guadeloupe. Nul doute que l'auteur ne conserve ainsi le mérite d'avoir fait connaître, tant par ses descriptions que par ses illustrations, les principaux aspects de la flore de la Guadeloupe. On ne saurait assez l'en féliciter.

Ad. DAVY DE VIRVILLE.

BRIQUET (John).— Prodrôme de la Flore Corse continué par René DE LITARDIÈRE. Tome II. Partie 2. Avant-Propos. Bibliographie (supplément). Catalogue critique des plantes vasculaires de la Corse : Oxalidaceæ. — Cactaceæ. 1 vol. in-8, 215 p. Paris, Lechevalier, éditeur, 1936.

On sait que l'illustre botaniste suisse John BRIQUET avait entrepris en 1907 de faire paraître un important Prodrôme de la flore corse. Cette publication, interrompue en 1913, au grand regret des botanistes méditerranéens, vient d'être reprise par le P^r DE LITARDIÈRE dont on connaît les importants travaux sur la géographie botanique de cette île. C'est dire que nul n'était plus qualifié que lui pour continuer cette œuvre floristique.

Dans ce volume consacré aux deux familles des Oxalidacées et des Cactacées, on trouvera, pour chaque espèce, outre une synonymie soigneusement établie, l'indication détaillée des sous-espèces qui s'y rattachent, et l'énumération complète, si la plante est peu répandue, des stations où elle a été récoltée en Corse. Ajoutons qu'une biblio-

graphie complète des publications sur la flore de cette île, parues depuis février 1909, se trouve en tête du volume. C'est dire tous les services que ce Prodrôme est appelé à rendre.

Ad. DAVY DE VIRVILLE.

SOUÈGES (René). — La Cellule embryonnaire. 1 vol. in-8. 72 p. et 16 fig. Paris, Hermann et C^{ie}, 1935.

Ce travail, véritable introduction à l'embryologie végétale est, comme son titre l'indique, consacré à l'étude de la cellule embryonnaire.

Après avoir rappelé les propriétés fondamentales de cette cellule, son origine, sa signification et décrit les différentes catégories d'œufs : simples, groupés et composés, l'auteur étudie d'abord la période de maturation, puis la morphologie externe de la cellule embryonnaire, distinguant les œufs sphériques, ellipsoïdaux, piriformes, cylindriques ; et sa morphologie interne, examinant successivement les parois, le contenu ou sarcode (noyau et cytoplasme, centrosome, chondriome, plastidome, vacuome et réserves), la polarité morphologique et fonctionnelle, ainsi que les localisations germinales et les œufs isotropes et anisotropes.

L'auteur conclut que si rien ne distingue la cellule embryonnaire des autres cellules, néanmoins elle doit avoir nécessairement, vu son rôle si particulier, l'organisation d'un puissant condensateur : et il invite les chercheurs à trouver la solution des problèmes que pose l'histoire de cette cellule « ceci dit sans la moindre pointe de fantaisie — dans les quadrilles des bio-éléments autour des valences du carbone, voire dans les rondes des électrons ou d'autres particules plus subtiles de la physique nucléaire ».

Ad. DAVY DE VIRVILLE.

SOUÈGES (René). — La segmentation. Premier fascicule : I. Les fondements. II. Les phénomènes internes. 1 vol. in-8, 88 p. et 22 fig. 1935. Deuxième fascicule. III. Les phénomènes externes. IV. Les blastomères. 1 vol. in-8, 80 p. et 81 fig. 1936. Paris, Hermann et C^{ie}.

Dans ces deux fascicules qui sont la suite logique du précédent, l'auteur étudie la segmentation de la cellule embryonnaire. Il envisage d'abord les fondements de cette segmentation, exposant les théories édifiées sur la constitution des organismes pluri-cellulaires, puis son déterminisme et les aspects sous lesquels elle peut se manifester : découpage ou clivage. Puis il étudie les phénomènes internes de la segmentation : d'abord cytologiques : et il en profite pour exposer les lois des mitoses de segmentation, ainsi que la paroi de celle-ci ;

puis physico-chimiques : envisageant le rôle de cette paroi dans la nutrition ainsi que la croissance de la membrane.

Dans le second fascicule, l'auteur traite des phénomènes externes de la segmentation, de la direction des parois, des types géométriques de clivage, de la direction des segmentations dans les cellules-mères des histogènes et dans les initiales des points végétatifs. Puis il étudie la vitesse de la segmentation, tant dans les blastomères des différentes espèces que dans ceux d'une même espèce, ainsi que l'ordre de succession des parois et les différentes sortes de segmentation. Un dernier chapitre est consacré aux blastomères : à leurs dimensions, leurs formes, leurs dispositions et leurs propriétés énergétiques : en particulier à leur spécificité : et l'auteur en profite pour faire un juste exposé critique du plasma germinatif et pour montrer le rôle des blastomères dans l'orthogénèse individuelle.

Une bibliographie des principaux travaux termine chacun des chapitres traités.

Au début de son travail, l'auteur modestement affirmait qu'il s'adressait ainsi « plutôt à ceux qui sont désireux d'apprendre qu'à ceux qui savent déjà ». Il nous permettra certainement d'affirmer que son exposé très clair sera également utile aux uns et aux autres.

AD. DAVY DE VIRVILLE.

WURMSER (René). — L'électroactivité dans la chimie des cellules. 1 vol. 82 p. et 11 fig. Paris, Hermann et C^{ie}, 1935.

« La constance de composition chimique des cellules paraît liée si étroitement au maintien même de leur forme que l'idée s'impose d'un mécanisme réglant les diverses réactions dont les cellules sont le siège ».

Dans cet ouvrage, qui intéressera surtout les spécialistes de la Physico-Chimie cellulaire, on trouvera précisément une étude de la détermination des constantes d'équilibre par application du principe de Nernst, puis par la méthode électrométrique, avec un tableau des indicateurs les plus généralement utilisés. L'auteur envisage ensuite les systèmes électroactifs des cellules, puis les niveaux d'oxydo-réduction des milieux cellulaires. De tous ces faits, il semble bien résulter que « le potentiel du milieu cellulaire est tel que les premiers processus du métabolisme, et ceux-ci seulement d'ailleurs, doivent être compensés par des processus inverses » et que « l'électroactivité contribue à maintenir dans un état stationnaire la composition des cellules ».

AD. DAVY DE VIRVILLE.

TILDEN (Joséphine E.). — The Algae and Life relations. Fundamental of Phycology. 1 vol. in-8, 550 p. et 257 fig. — The University of Minnesota Press, Minneapolis (Minnesota). 1935.

Dans ce livre dédié par J.E. TILDEN à ses étudiants, on trouvera exposé, d'une manière entièrement originale, un résumé de nos connaissances sur la vie des Algues.

Après une mise au point des hypothèses relatives à la phylogénie de ces végétaux, l'auteur consacre quelques pages, trop courtes à notre gré, à la répartition des algues marines. Ensuite elle examine la classification des algues basée sur l'évolution. Enfin et surtout elle étudie systématiquement les Cyanophycées, les Rhodophycées, les Phéophycées, les Chrysophycées et les Chlorophycées. Pour chacune de ces classes, on trouvera d'abord un tableau récapitulatif des sous-classes, ordres, familles et genres, puis une étude détaillée des plus importants d'entre eux, accompagnée de schémas instructifs faisant connaître, d'une manière aussi originale que démonstrative, le cycle de développement et la forme des appareils reproducteurs des principales algues. Nous nous permettons d'attirer tout spécialement l'attention sur ces schémas dont on peut tirer le plus grand profit pour l'illustration d'un cours sur le cycle de développement de ces végétaux. C'est certainement là un des principaux mérites de cet ouvrage. Les mêmes réflexions s'appliquent, dans un autre ordre d'idées, à l'appendice consacré à la standardisation des dessins d'algues destinées à la publication où l'on trouvera des reproductions de dessins rigoureusement comparables, mais à divers grossissements ainsi qu'une table des numéros respectivement agrandis dans les mêmes proportions. Une importante bibliographie termine ce traité.

Ad. DAVY DE VIRVILLE.

FLEXIONS PATHOLOGIQUES

DES RAMEAUX D'*EPICEA*

par M. Raymond SCHNELL

On trouve fréquemment sur l'*Epicea* (*Picea excelsa*, Lamk.) des rameaux présentant une courbure très nette dans leur région basale.

Ces pousses courbées peuvent être ramenées à deux types.

Les unes ne portent pas de parasite. La cause qui les a produites n'est pas observable.

Les autres, sont d'origine parasitaire. Elles sont liées à une galle. Il s'agit de la galle produite par un Hémiptère, *Adelges Abietis* Kalt. (*Chermes Abietis* L, *Sacciphantes Abietis* L). La galle est localisée au niveau de la courbure, très généralement dans la concavité de celle-ci.

La galle d'*Adelges Abietis* a été étudiée de façon approfondie par FRANK (1896), TUBEUF (1896), KÜSTER (1911, 1916, 1930), ROSS (1911, 1932) et surtout par HOUARD (1903, 1908-9). La flexion corrélative de la galle a été observée par les mêmes auteurs.

Les flexions sans cause apparente n'ont, à ma connaissance, fait jusqu'à présent l'objet d'aucun travail.

Les flexions sans cause apparente.

Ces flexions sont caractérisées par une altération du rameau et une altération de l'axe (fig. 1).

L'axe du rameau est raccourci au niveau de la flexion.

On sait que la tige de l'*Epicea* est entièrement couverte par les bases des feuilles. Son allongement se manifeste extérieurement par l'allongement des bases foliaires qui s'épaississent en même temps

et donnent les coussinets foliaires (*pulvinus*). Le raccourcissement du rameau se manifeste donc par le raccourcissement des coussinets foliaires.

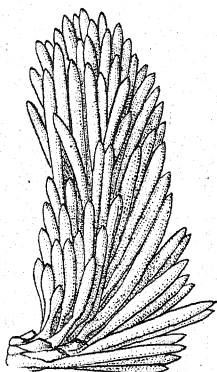


Fig. 1. — Pousse courbée sans cause apparente ; récoltée au début de mai 1935. les feuilles de la concavité sont en forme de massue. On a enlevé quelques-unes de ces feuilles (gr. 2 fois).

Le raccourcissement du coussinet est surtout intense dans la concavité de la flexion. Par exemple, on trouve sur la convexité du rameau courbé, des coussinets de 2 mm., dans la concavité, des

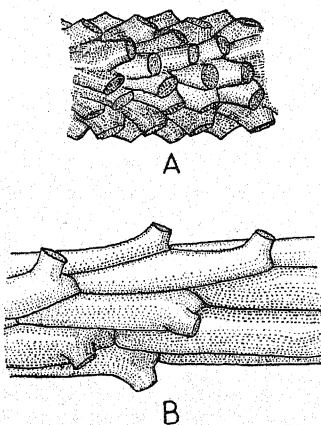


Fig. 2. — A. Coussinets avortés portés par la face concave d'une pousse courbée. Le raccourcissement de l'axe est bien visible.

B. Coussinets normaux (gr. 6,5 fois).

coussinets de 1 mm., alors que le coussinet normal, mesuré au delà de la flexion, est de 3 mm. La flexion est due à une différence de raccourcissement suivant les diverses génératrices de l'axe.

Les coussinets de la face convexe, bien que raccourcis, sont bien individualisés. Ceux de la face concave ne sont qu'imparfaitement différenciés. Ils n'ont pas la saillie caractéristique du coussinet

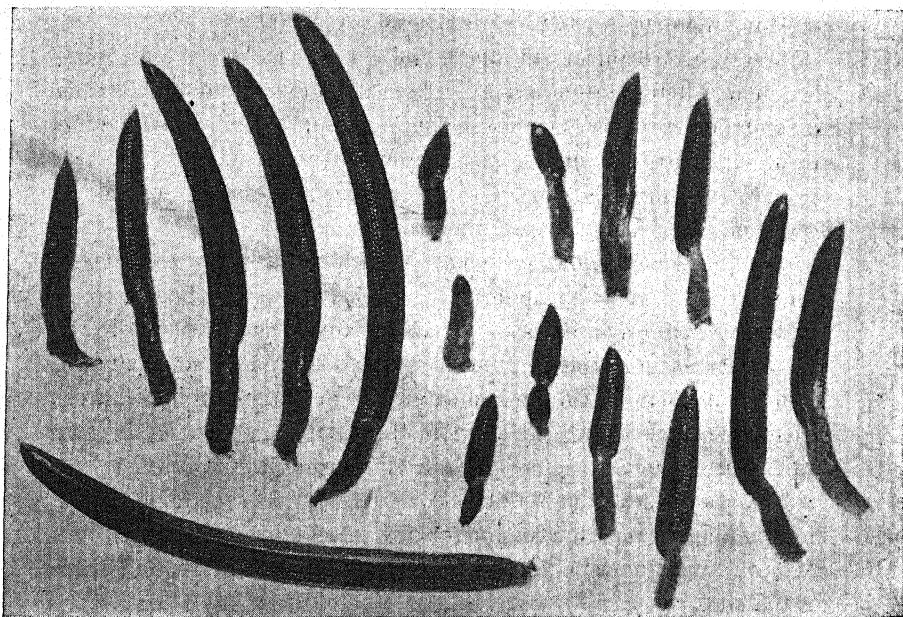


Fig. 3. — Divers types de feuilles en massue. Ces feuilles sont prises à des pousses différentes. Horizontalement : une feuille normale (gr. 4,5 fois).

normal, ils se raccordent progressivement à la surface du rameau. Ces coussinets sont semblables aux coussinets encore peu différenciés que l'on trouve chez le bourgeon au moment de son ouverture (fig. 2).

Le raccourcissement du coussinet est lié au raccourcissement des cellules qui le constituent. L'intensité de ce raccourcissement cellulaire varie dans de larges limites. C'est ainsi que j'ai observé des coussinets raccourcis à cellules de 70 μ , sur des rameaux où les

cellules du coussinet normal mesuraient $215\ \mu$ et sur d'autres rameaux, des cellules de $100\ \mu$ correspondant à des cellules normales de $130\ \mu$.

Dans la concavité de la courbure, les feuilles sont profondément modifiées. Elles ont une forme de massue plus ou moins caractéristique. Elles présentent deux régions bien définies : la région supérieure qui est un limbe bien différencié et la région basale. Pour continuer notre comparaison avec une massue, nous donnerons le nom de « manche » à cette région basale (fig. 3).

Le limbe est plus court que le limbe normal. Parfois le raccourcissement est très intense et le limbe est réduit à sa pointe. Parfois au contraire, le limbe est presque aussi long que le limbe de la feuille normale. Entre ces deux cas extrêmes, prend place toute une série de cas intermédiaires. Ce sont ces degrés intermédiaires que l'on rencontre le plus fréquemment.

Le limbe des feuilles en massue se différencie plus précocement que celui des feuilles normales : lors de l'ouverture du bourgeon, le limbe des feuilles normales est encore pauvre en chlorophylle, ce qui lui donne une teinte jaune-verdâtre assez pâle ; au contraire, le limbe des feuilles en massue est déjà riche en chlorophylle : il est sensiblement aussi vert que le limbe de la feuille adulte. Sa largeur également est déjà presque égale à la largeur du limbe adulte.

Le « manche » de la feuille en massue est plus long que le pétiole de la feuille normale. Sa longueur varie généralement aux alentours d'1 ou 2 mm. alors que la longueur du pétiole normal est de l'ordre de 0,5 mm.

Les lignes de stomates du limbe se prolongent sur le manche. C'est là un caractère de limbe.

D'autres caractères éloignent le manche du limbe.

Le manche est très pauvre en chlorophylle. Il n'en possède pas lors de l'ouverture du bourgeon. Plus tard, il en acquiert un peu.

Le manche porte des papilles épidermiques plus ou moins nombreuses, alors que le limbe n'en possède à aucun moment de son développement.

L'épaisseur du manche est généralement inférieure à celle du limbe. Elle peut être égale à celle du pétiole normal, ou plus grande.

Au point de vue histologique, le manche des feuilles en massue est constitué de grandes cellules indifférenciées, allongées dans le

sens de la feuille. La longueur de ces cellules est de l'ordre de $100\ \mu$. On ne trouve pas dans le manche la disposition des cellules qui caractérise le tissu assimilateur de la feuille normale (fig. 4).

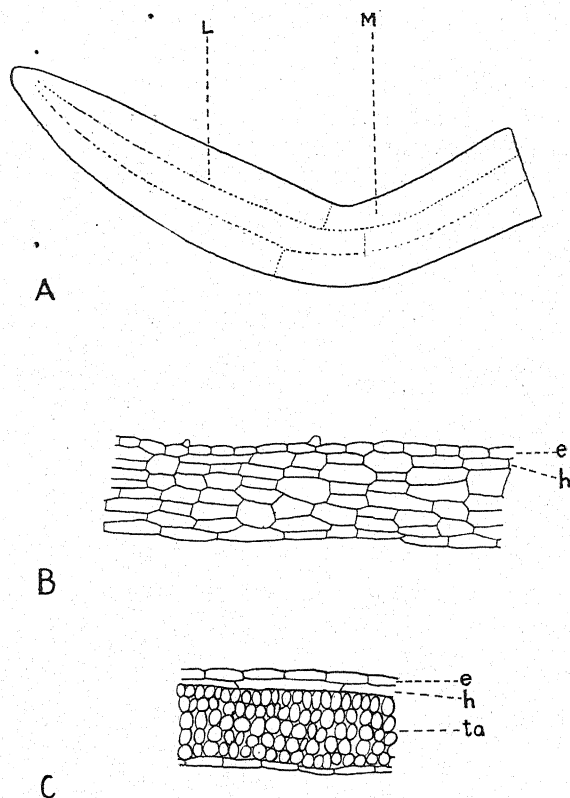


fig. 4. — Feuille en massue

- A. Schéma général de la feuille. *L* : limbe ; *M* : manche (gr. 26 fois).
 B. Détail de la structure du manche (gr. 80 fois).
 C. Détail de la structure du limbe (gr. 80 fois). *e* : épiderme ; *h* : hypoderme ; *ta* : tissu assimilateur.

Au cours de l'été, certains groupes de cellules de l'assise sous-épidermique lignifient leurs parois. Ainsi se différencie un hypoderme discontinu.

Le nombre d'assises cellulaires est généralement le même que chez la feuille normale. Les tissus extérieurs à la zone centrale

conductrice (épiderme, assise hypodermique, parenchyme, endoderme) constituent 7 ou 8 assises. Mais il arrive assez souvent que ce nombre soit dépassé dans la région basale du manche ; il peut y avoir jusqu'à 15 assises. Cette hyperplasie se rencontre chez les manches les plus larges. Elle n'est jamais considérable, elle n'est pas générale.

Ce qui caractérise la région altérée de la feuille en massue, c'est qu'elle est une portion de limbe, mais qu'elle est dépourvue des différenciations qui définissent le limbe achevé.

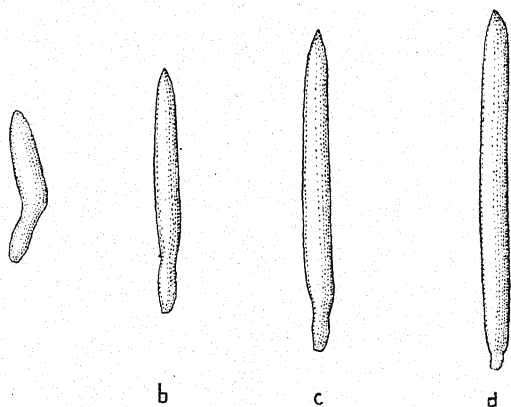


Fig. 5. — Série de feuilles prises sur une pousse courbée sans cause apparente
 a) feuille en massue de la base de la zone d'altération ;
 b) feuille en massue du milieu de la zone d'altération ;
 c) feuille en massue du sommet de la zone d'altération ;
 d) feuille normale prise au delà de la zone d'altération (gr. 4 fois).

Les pousses courbées sans cause apparente sont donc caractérisées par des phénomènes d'inhibition : inhibition de la tige (arrêt de l'allongement et de la différenciation du coussinet), inhibition de la feuille (arrêt de la différenciation d'une portion de limbe).

Cette indifférenciation est localisée dans une région bien définie du rameau.

A l'intérieur de cette zone d'altération, la disposition des feuilles modifiée n'est pas quelconque. Les mesures que j'ai effectuées ont montré que :

la longueur des feuilles est d'autant plus grande qu'elles sont plus éloignées de la base de la zone d'altération ;

la longueur du limbe augmente, elle aussi, de la base au sommet de la zone d'altération ;

la longueur du manche diminue généralement de la base de la zone d'altération à son sommet ; mais il arrive que la diminution ne soit pas régulière ; la longueur du manche peut passer par un maximum. (fig. 5).

Flexions accompagnant la galle d'*Adelges Abietis*

Comme les flexions précédentes, les flexions accompagnant la galle d'*Adelges Abietis* comportent une altération du rameau et une altération de la feuille.

La galle d'*Adelges Abietis* est à la fois une galle de tige et une galle de feuille.

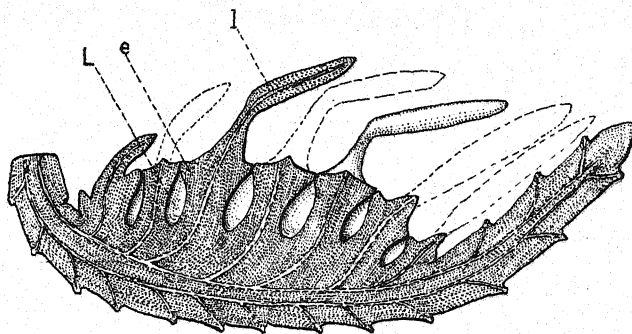


Fig. 6. — Coupe d'une galle adulte d'*Adelges Abietis*.
l : limbe ; e : écusson ; L : loge (gr. 3 fois).

L'axe du rameau est raccourci (1) et hypertrophié (2) au niveau de la galle.

Le raccourcissement se fait suivant toutes les générations de l'axe, mais très fréquemment il est plus fort sur le côté attaqué que sur l'autre. De là résulte la flexion du rameau au niveau de la galle.

La *feuille de galle adulte* est caractérisée par sa région basale, qui est profondément modifiée.

(1) Voir ROSS (1911) — MARESQUELLE (1935).

(2) Voir TUBEUF (1896) — HOUARD (1903).

Cette région basale est hypertrophiée.

Entre les régions basales des feuilles de galle voisines se trouvent les loges où vivent les jeunes pucerons issus de la fondatrice au printemps.



Fig. 7. — Jeune galle d'*Adelges Abietis*, avant la formation de l'écusson. Début mai 1935. Remarquer à la base de la pousse la substance laineuse sécrétée par la fondatrice. Dans cette substance se trouve la ponte de la fondatrice (gr. 3 fois).

Ces loges sont fermées à leur partie supérieure par un organe spécial, l'écusson, qui est une prolifération de la région foliaire altérée (fig. 6).

Ce stade, caractérisé par la présence de l'écusson, est de for-

mation secondaire. La formation de l'écusson est déterminée, non par l'action de la fondatrice, mais par celle des jeunes pucerons.

C'est ce que montrent des expériences simples. Ces expériences ont consisté à enlever les œufs pondus par la fondatrice. Elles ont été effectuées par M. MARESQUELLE sur les galles d'*Adelges strobilobius* (travail non publié, effectué en 1930), et par moi-même sur les galles d'*Adelges Abietis*. Dans les deux cas, l'écusson ne s'est pas formé, et la feuille est restée indéfiniment au stade où elle se trouvait lors de l'ouverture du bourgeon.

C'est ce stade que nous allons spécialement étudier (fig. 7).

La feuille de galle jeune, telle qu'on peut l'observer lors de l'ouverture du bourgeon, au début de mai, n'a pas de coussinet. Elle est différenciée en deux régions : une région supérieure, qui est le limbe, et une région basale, modifiée par l'action parasitaire.

Le limbe est plus court que le limbe normal. Il peut même être réduit à sa pointe. Sa différenciation est plus précoce. Il s'enrichit plus vite en chlorophylle (1) et s'élargit aussi plus vite. Cette différenciation précoce est très nette au moment où s'ouvre le bourgeon.

La région basale est plus longue que le pétiole de la feuille normale. Elle atteint par exemple une longueur de 2 ou 3 mm.

Elle porte des lignes de stomates qui prolongent les lignes de stomates du limbe et des papilles épidermiques.

Elle est formée de cellules indifférenciées, généralement allongées dans le sens de la feuille. Ces cellules n'ont pas de chlorophylle, ou en ont extrêmement peu (fig. 8).

Le nombre d'assises cellulaires est plus grand que chez la feuille normale. Au lieu des 7-8 assises de la feuille normale, on en trouve fréquemment 18 à 20, parfois même plus.

Il en résulte que la région altérée est plus large que la feuille normale.

La galle jeune d'*Adelges Abietis* sur l'*Epicea* est donc caractérisée par :

(1) Ce fait est peut-être à rapprocher d'une observation faite par KÜSTER (1925) : Lorsqu'une galle d'*Adelges* atteint en rameau panaché, les feuilles altérées et les feuilles voisines se distinguent des autres feuilles de la pousse par leur richesse en chlorophylle.

Dans les deux cas, l'action parasitaire a été l'origine d'une production de chlorophylle.

On peut aussi établir la comparaison avec les fleurs virescentes.

- un raccourcissement local de l'axe, généralement maximum du côté du parasite, entraînant donc une flexion ;
- une hypertrophie de l'axe au niveau de la galle ; (cette hypertrophie a été étudiée par HOUARD 1903) ;
- l'indifférenciation des bases de feuilles ;
- l'hypertrophie de ces mêmes bases de feuilles.

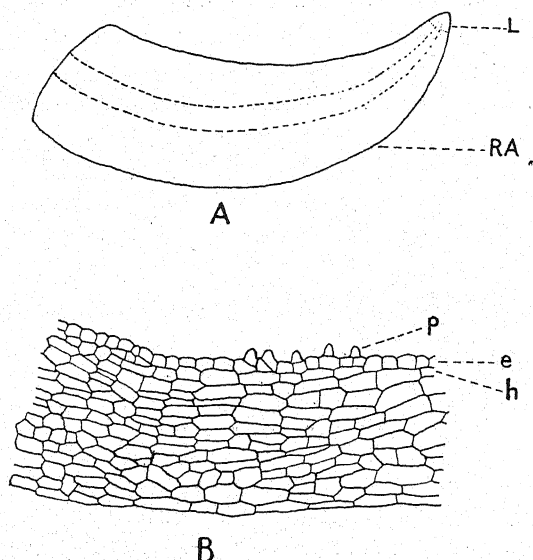


Fig. 8. — Feuille de galle jeune :

A : Schéma général de la feuille de galle. L : limbe ; RA : région altérée (gr. 26 fois).

B : détail de la structure de la région altérée :
e : épiderme ; p : papille épidermique ; h : hypoderme (gr. 80 fois).

Autrement dit, la galle jeune présente à la fois des phénomènes d'hypertrophie et des phénomènes d'inhibition.

Au point de vue de l'action du parasite sur l'allongement de la tige, la galle d'*Adelges Abietis* se rattache donc au groupe des galles en ananas, dans lesquelles l'inhibition d'allongement de la tige, toujours maxima au contact du parasite, produit la flexion qui porte la galle dans sa concavité (comparer avec la galle de *Dasyneura Sisymbrii* sur *Barbarea vulgaris* ; — voir MARESQUELLE 1935).

Or, il existe une exception très nette à cette règle générale : on rencontre des galles d'*Adelges Abietis* localisées au contraire

sur la convexité de la courbure. Ce cas est rare ; sur plusieurs centaines de cas étudiés, je n'ai trouvé que 8 de ces galles.

Ces galles à flexion inverse sont connues depuis longtemps (KÜSTER, 1911, *die Gallen der Pflanzen*, p. 372).

Chez ces galles, l'altération de la feuille ne coïncide pas avec le raccourcissement le plus intense du rameau. Elle est localisée sur l'une des faces du rameau, le raccourcissement de l'axe a son maximum sur l'autre face. On a l'impression qu'il y a une disjonction entre les deux altérations : celle du rameau et celle de la feuille. Qu'en est-il en fait ?

Dans la concavité de ces flexions, du côté opposé à la galle, on trouve des feuilles à limbe raccourci. De telles feuilles existent aussi en bordure de certaines galles. Elles résultent donc d'une action du parasite. Leur présence dans la concavité des flexions indique que l'action du parasite s'est étendue jusque-là. L'action du parasite a été très pénétrante. Elle a provoqué un raccourcissement intense sur tout le pourtour de l'axe.

On conçoit que, dans ce rameau fortement raccourci suivant toutes ses génératrices, l'hypertrophie accompagnant la galle ait compensé le raccourcissement d'une des faces du rameau, créant ainsi la flexion inverse du rameau.

Ces feuilles à limbe raccourci et à coussinet individualisé et raccourci, que nous avons rencontrées dans la concavité des flexions inverses, nous apparaissent comme dues à une action faible du parasite.

Les galles du type normal nous ont montré un degré plus faible encore de l'action parasitaire : les feuilles de la face convexe ont un limbe normal et un coussinet raccourci.

Nous pouvons donc imaginer deux degrés parmi les actions parasitaires très faibles :

un premier-degré caractérisé par le raccourcissement du coussinet — le limbe restant intact ;

et un deuxième degré caractérisé par le raccourcissement simultané du coussinet et du limbe.

Des résultats intéressants sont fournis par l'étude de la disposition longitudinale des feuilles de galle.

De la base au sommet de la zone d'altération, on observe une augmentation de la longueur totale des feuilles, une augmentation

de la longueur des limbes, et généralement une diminution de la longueur foliaire altérée (fig. 9).

L'intensité de l'hypertrophie foliaire : elle aussi, varie en fonc-

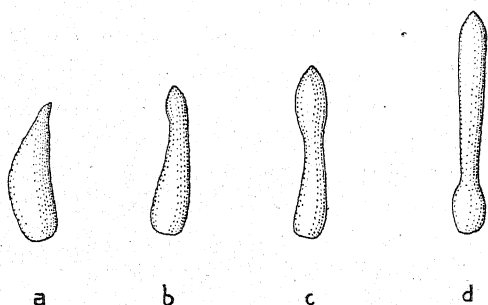


Fig. 9. — Série de feuilles de galle jeunes :

a : feuille de la base de la galle, très hypertrophiée et à limbe très réduit ;

b et *c* : feuilles de la région médiane de la galle ;

d : feuille du sommet de la galle (gr. 4,5 fois).

tion de la position de la feuille dans la galle. D'une façon générale, elle diminue de la base de la galle à son sommet.

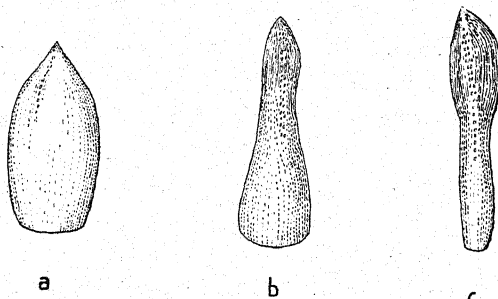


Fig. 10. — Série de feuilles de galles jeunes :

a) feuille de la base de la galle ;

b) feuille de la région médiane de la galle ;

c) feuille du sommet de la galle, en forme de massue (gr. 7,5 fois).

La diminution de l'hypertrophie foliaire en fonction de la distance à la base de la galle peut être considérable.

Parfois les feuilles supérieures de la galle sont si peu hypertrophiées qu'elles ont une forme de massue, le manche de la massue étant représenté par la région altérée de la feuille (fig. 10).

Ce manche comporte une écorce formée de 7 ou 8 assises de cellules indifférenciées, allongées dans le sens de la feuille. Autrement dit, cet organe est en tous points semblable au manche des feuilles altérées qui caractérisent les flexions sans galles.

L'absence d'hypertrophie que nous trouvons chez ces feuilles est manifestement en rapport avec leur distance à la base de la galle — c'est-à-dire leur distance à l'insecte produisant la galle. Les feuilles les plus proches de l'insecte sont à la fois indifférenciées et hypertrophiées ; les feuilles les plus éloignées ont seulement subi l'arrêt de la différenciation.

Le pouvoir hypertrophiant de l'insecte diminue quand la distance croît.

On conçoit que l'action cécidogène diminue d'intensité quand la distance à l'insecte augmente.

Quand l'action cécidogène est intense, il y a indifférenciation et hypertrophie. Au contraire, quand elle est faible, les tissus sont seulement indifférenciés.

Une action faible du parasite est suffisante pour empêcher la différenciation des tissus, mais elle est incapable de produire de l'hypertrophie.

Cette diminution du pouvoir hypertrophiant de l'insecte en fonction de la distance, nous la retrouvons également sur chaque feuille de galle. Sur une feuille de galle déterminée, l'hypertrophie est maxima à l'extrême base de la feuille ; elle diminue vers le haut de la région altérée. Elle peut même disparaître au sommet de cette région altérée.

Seule subsiste alors l'indifférenciation.

Dans les deux cas, nous avons l'expression de la même loi : le territoire d'inhibition est plus étendu que le territoire d'hypertrophie.

A partir d'une certaine distance de l'insecte, l'action cécidogène n'est plus assez puissante pour créer de l'hypertrophie ; elle ne peut qu'empêcher la différenciation.

Comparaison des deux types d'altération.

Les deux sortes de flexions que nous venons d'étudier présentent de nombreux caractères communs :

1° Dans les deux cas l'altération est localisée à la base de la pousse.

2° Il y a altération du rameau et altération de la feuille.

3° Le rameau est raccourci au niveau de la flexion. La flexion résulte d'une inégalité de raccourcissement suivant les diverses génératrices de l'axe.

4° La feuille altérée est constituée par une zone basale altérée que surmonte un limbe plus ou moins raccourci.

5° Les caractères du limbe sont les mêmes chez les feuilles altérées des deux sortes de flexions. Dans les deux cas, ce limbe se différencie plus rapidement que le limbe des feuilles normales.

6° Dans les deux altérations, la base de la feuille est privée de chlorophylle et porte des lignes de stomates et des papilles épidermiques.

Les deux altérations ne diffèrent que par la largeur de la base des feuilles, c'est-à-dire par des phénomènes d'hypertrophie.

7° La région altérée est formée de cellules indifférenciées, allongées dans le sens de la feuille. Seul diffère, entre les deux types d'altération, le nombre d'assises cellulaires. Chez les feuilles en massue, il est généralement le même que chez les feuilles normales, alors que chez les feuilles de galle, il est généralement plus grand.

8° Il existe entre les feuilles en massue typiques et les feuilles de galle typiques, une série continue de formes de transition, plus ou moins hypertrophiées. Il y a des feuilles de massue dont la base est hypertrophiée, et des feuilles de galle dont l'hypertrophie est faible ou même nulle. Il y a des formes intermédiaires dont on ne saurait dire si on se trouve en présence d'une feuille de galle jeune ou d'une feuille en massue ; ce qui permet alors de leur donner un nom, c'est la présence ou l'absence d'insectes, et par suite leur évolution ultérieure.

9° La disposition des feuilles dans la zone d'altération est identique : la longueur foliaire totale et la longueur du limbe augmentent vers le haut de la zone d'altération, en même temps que la longueur de la région basale diminue.

10° On trouve parfois, à la base des flexions sans galle, des feuilles très courtes, sans limbe, et hypertrophiées. Ces feuilles sont identiques à celles que l'on trouve fréquemment à la base des galles.

11° Au sommet de certaines galles d'*Adelges Abietis*, on trouve des feuilles en massue typiques.

Ces faits montrent qu'il n'y a pas, entre la galle jeune d'*Adelges Abietis* et la flexion sans galle, de différence fondamentale. La différence est moins une différence de nature qu'une différence de degré.

D'autres relations existent entre les deux types d'altération.

1° Les pousses courbées sans galle ne se rencontrent que sur les arbres portant des galles d'*Adelges Abietis*. Mes statistiques portent sur plusieurs centaines de bourgeons. J'ai pris des arbres riches en galles et des arbres pauvres en galles. J'ai compté, sur certaines branches, le nombre total de pousses et le nombre de ces pousses qui étaient courbées.

Chez les Epicéas très pauvres en galles d'*Adelges Abietis*, j'ai trouvé les chiffres suivants :

Nombre total de pousses	Nombre de pousses courbées sans galle portées par les mêmes rameaux
27	0
23	0
18	0
14	0
25	0
21	0

Chez des Epicéas très riches en galles, les chiffres ont été les suivants :

Nombre total de pousses	Nombre des pousses courbées sans galle.
33	4
24	1
53	2
19	1
37	4
39	3

Ces chiffres montrent que le nombre des pousses courbées est en rapport avec la densité des galles sur les arbres. Ce rapport ressort avec plus de netteté d'une autre série de numérations : j'ai pris un certain nombre de branches, et j'ai compté sur celles-ci, le nombre de galles et le nombre de pousses courbées ; les résultats ont été les suivants :

Nombre de galles	Nombre de pousses courbées sans galle
38	7
24	4
5	1
16	4
29	7
5	1
6	2
16	2

Les flexions sans galle sont nombreuses sur les arbres riches en galles, rares sur les arbres pauvres en galles. Ce fait est général. Je n'ai jamais rencontré de flexions sans galle sur des arbres qui ne portaient pas de galles.

2° A la base des pousses courbées jeunes, on trouve généralement un ou plusieurs petits *Adelges* morts. Ces insectes sont faciles à reconnaître, grâce à la substance laineuse qui les recouvre. L'observation doit être faite de bonne heure, car les insectes sont rapidement enlevés par les intempéries. Dans mes statistiques je n'ai tenu compte que des insectes morts bien reconnaissables. Sur un total de 474 pousses examinées, il y avait 32 pousses courbées ; 28 de ces pousses portaient un ou plusieurs insectes morts et 4 n'en portaient pas ; encore sur ces 4 y en avait-il une dont la flexion était très faible.

Interprétation des flexions.

Ces observations, jointes aux précédentes, permettent de supposer que les pousses courbées sans galle sont produites par une action brève d'*Adelges Abietis*.

Cette hypothèse est fort vraisemblable : nous avons rencontré, chez la galle, des feuilles en massue, semblables à celles qui caractérisent les flexions sans galle ; l'insecte est capable de produire l'altération de la feuille qui caractérise ces flexions.

Pour vérifier cette hypothèse, j'ai effectué un certain nombre d'expériences. J'ai enlevé la femelle fondatrice d'un certain nombre de bourgeons parasités. Il y a eu en tout une cinquantaine d'expériences.

Les ablations faites en février et mars n'ont donné aucune flexion : les bourgeons se sont développés normalement.

Par contre, sur 10 bourgeons traités à la fin d'avril, j'ai obtenu 7 pousses courbées, avec des feuilles en massue caractéristiques.

CONCLUSION

Si les flexions sans cause apparente observées sur les rameaux de l'Épicéa sont effectivement des galles d'*Adelges* avortées par disparition prématurée du parasite, on peut conclure que l'existence de ces flexions nous renseigne utilement sur l'enchaînement des processus de la cécidogenèse dans le développement de la galle d'*Adelges Abietis*.

La première action exercée par le parasite est inhibitrice : elle comporte l'arrêt de l'allongement de l'axe, morphose dont on signalait récemment (MARESQUELLE 1935) la grande extension chez beaucoup de galles, mais on observe en même temps un arrêt de différenciation de la partie basale de la feuille.

Dans certains cas, on voit même ces deux phénomènes se séparer l'un de l'autre et l'inhibition d'allongement se réaliser seule.

C'est seulement plus tard qu'intervient l'hypertrophie parasitaire. Elle est la conséquence d'une action plus prolongée ou encore plus intense, comme l'ont montré les observations sur l'extension relative de l'hypertrophie et de l'indifférenciation dans les diverses régions d'une galle ou d'une feuille.

Mais tous ces phénomènes sont provoqués par la fondatrice.

Les phénomènes ultérieurs (formation de l'écusson, différenciation des cavités gallaires) sont produits par les jeunes pucerons issus de la ponte de la fondatrice et représentant donc une troisième phase de la cécidogénèse.

RÉSUMÉ

L'objet de ce travail est d'étudier les flexions des rameaux de l'Epicéa, en particulier de celles qui, ne portant pas de parasite et ne montrant pas de déformation cécidogène, ne paraissent pas pouvoir être ramenées aux flexions déjà connues, liées à la galle d'*Adelges Abietis*.

La flexion sans cause apparente consiste en un raccourcissement de l'axe prédominant sur une face ; le fait se manifeste extérieurement par le raccourcissement des bases foliaires (coussinets) qui, chez l'Epicéa, recouvrent entièrement la tige. Mais il y a aussi une transformation des feuilles dans la concavité de la flexion : elles prennent une forme de massue, parce que le limbe n'atteint que dans sa partie distale sa largeur et sa différenciation normales, tandis que la portion basale du limbe, demeurée peu différenciée, et prenant l'aspect d'un pétiole anormalement long, constitue le manche de la massue.

Envisageant ensuite, pour la comparer à la précédente, la flexion liée à la galle d'*Adelges Abietis*, j'ai montré que les deux flexions ont pour caractères communs l'arrêt de l'allongement de l'axe et l'arrêt de la différenciation du segment basal de la feuille dans la concavité de la courbure, mais que la galle présente, en plus de ses traits négatifs, une hypertrophie parasitaire, et, plus tard, des différenciations spécifiquement cécidiennes.

De cette comparaison, d'observations faites sur la localisation de ces deux types d'anomalies, d'expériences d'ablation assez précoce des pucerons, se dégage l'idée que les flexions sans galle apparente doivent être en réalité des galles avortées, demeurées à un

stade juvénile, par disparition du parasite après l'exercice de son action inhibitrice et avant l'exercice de son action hypertrophiante.

Ce travail a été effectué au laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences de Strasbourg, sous la direction de M. MARESCHELLE, que je remercie pour l'intérêt qu'il m'a constamment témoigné.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à M. HOUARD, pour tous les conseils qu'il a bien voulu me donner au cours de mes recherches.

Je remercie la Société des Amis de l'Université de Strasbourg pour l'aide qu'elle m'a apportée en vue de l'illustration de ce travail

BIBLIOGRAPHIE

- FRANK. — Die tierparasitären Krankheiten der Pflanzen. Breslau. 1896.
- HOUARD. — Recherches anatomiques sur les galles de tiges: Pleurocécidies. (*Bulletin scient. France et Belgique*. T. 38, 1903).
- HOUARD. — Les zoocécidies des plantes d'Europe et du bassin de la Méditerranée. Paris. Tome I. 1908; T. II: 1909.
- KÜSTER. — Die Gallen der Pflanzen. Leipzig. 1911.
- KÜSTER. — Pathologische Pflanzenanatomie. Jéna 1916.
- KÜSTER. — Anatomie der Gallen. Berlin. 1930.
- KÜSTER. — Beiträge zur Kenntnis der parasitierten Gehölze (*Mitteil. der D. dendrol. Gesellschaft* 35-1925).
- MARESQUELLE. — Défaut d'allongement et dépoliarisation de la croissance dans les morphoses parasitaires (*Revue générale de Botanique*. T. 47. 1935).
- MOLLIARD. — Hypertrophie des cellules végétales (*Revue générale de Botanique*. IX. 1897).
- MOLLIARD. — Recherches sur les cécidies florales (*Annales des Sciences naturelles. Botanique*. 8^e série T. I. 1895).
- ROSS. — Die Pflanzengallen Mittel- und Nord-Europas. Jéna. 1911.
- ROSS. — Praktikum der Gallenkunde. Berlin. 1932
- SORAUER. — Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Berlin. 1928.
- TUBEUF. — Die Haarbildungen der Coniferen. (*Forstl. Naturwiss. Zeitschrift*, V. 1896).
- WEISSE. — Über die Blattstellung an einigen Triebspitzengallen (*Jahrb. wiss. Bot.* 37. 1902).
- WINKLER. — Zur Anatomie der durch die Fichtenrindenlaus an Fichtenzweigen entstehenden Zapfengallen (*Osterr. Bot. Zeitschrift* 28. 1878).
- ZWEIGELT. — Beiträge zur Kenntnis der Saugphänomens der Blattläuse und der Reaktionen der Pflanzengallen (*Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten*. 2. Abt. 42. Band. 1915).
- ZWEIGELT. — Blattlausgallen. Monographien zur angewandten Entomologie. Berlin 1931.

RECHÈRES COMPARATIVES
SUR LA
TRANSPIRATION DE QUELQUES ESPÈCES
LIGNEUSES ET HERBACÉES
DU BAS-LANGUEDOC

par M. J. GIROUX et Mlle SOROCEANU

Le problème de la transpiration chez les végétaux a eu le don, depuis plus de cinquante ans, de retenir l'attention des chercheurs de tous les pays ; il est vrai que la complexité de cette fonction rendait nécessaires de longues et parfois minutieuses recherches analytiques.

La transpiration est en effet sous la double dépendance du milieu (lumière, état hygrométrique de l'atmosphère, température, sol, etc...) et de *conditions internes* inhérentes à la structure et à la physiologie même de chaque végétal.

D'innombrables études devaient, en faisant varier l'un après l'autre chacun de ces facteurs, éclairer peu à peu le problème et nous renseigner d'une façon plus ou moins parfaite, sur le mécanisme d'un processus dont l'importance est générale pour la vie de la plante. Et il est possible désormais, à la lumière des résultats acquis par le travail de laboratoire, d'entreprendre l'étude de la transpiration *dans la nature*, au milieu des conditions normales d'habitat du végétal.

C'est avec le souci d'opérer dans la nature, que STOCKER (1931-33) et FIRBAS (1931), PISEK et CARTELLIERI (1931-32-33), etc..., ont étudié la transpiration des végétaux dans l'Europe septentrionale et dans l'Europe centrale, que STOCKER (1929), SEYBOLD (1929-30), KILLIAN (1932), HARDER, FILZER et LORENZ (1933), ont effectué leurs mesures dans l'Afrique du Nord.

Il appartenait à BRAUN-BLANQUET (1932) et à ses élèves, MEIER (1932) BHARUCHA (1933) d'étudier les premiers la transpiration des végétaux dans la région languedocienne (1).

Et BRAUN-BLANQUET introduisait cette idée neuve que non seulement il est nécessaire d'expérimenter dans la nature, mais que l'on ne doit pas séparer le végétal de l'association au milieu de laquelle il rencontre l'optimum de conditions biologiques favorables à son développement.

Restait le choix d'une méthode à la fois pratique et suffisamment sensible parmi celles innombrables successivement employées dans l'étude de la transpiration.

On peut classer toutes ces méthodes en trois groupes :

I. Méthodes dans lesquelles on recueille et on pèse l'eau perdue par évaporation, en particulier par l'emploi de substances hygroscopiques, telles le chlorure de calcium ($\text{Cl}^2\text{Ca.}$).

II. Méthodes dans lesquelles on pèse la plante à intervalles réguliers ; par différence de poids, on déduit la quantité d'eau transpirée.

III. Méthodes qui déterminent l'absorption des plantes.

Le deuxième groupe semble bien renfermer les méthodes les meilleures. Mais, pendant longtemps on s'est attaché à peser le *végétal entier*, le plus souvent dans un vase rempli de terre.

La critique de cette façon d'opérer est facile car, indépendamment du coefficient d'erreur toujours élevé, par suite de la masse de terre ajoutée au moment de la pesée au végétal, il est évident que l'application de cette méthode reste extrêmement limitée : c'est ainsi qu'elle exclue, pour ne prendre que cet exemple, toutes les espèces arbustives et arborescentes. D'autre part, nous dit KILLIAN (1931), en opérant en vase hermétiquement clos « on néglige un des facteurs les plus essentiels pour la transpiration : la dessiccation des couches supérieures du sol ».

Par contre HUBER (1927) a proposé une méthode de pesée instantanée, modifiée ensuite par SOTCKER (1929), dite des « rameaux coupés », qui permet d'opérer dans la nature : nous l'avons adoptée.

Le principe de cette méthode est le suivant : on sectionne soit l'extrémité d'un rameau, soit les feuilles du végétal étudié, et l'on

(1) Toutes nos expériences ont d'ailleurs été faites avec les appareils de la S. I. G. M. A. et sous le contrôle de M. BRAUN-BLANQUET, directeur de la station.

pèse aussi rapidement que possible ; puis on expose un nombre convenu de minutes au lieu du prélèvement : on détermine à nouveau le poids et par différence entre les deux pesées on a la *perte en eau* que l'on rapporte soit à l'unité de surface par minute, soit à l'unité de poids (*gramme*) de substance fraîche ou sèche par minute ou par heure.

Certes cette méthode est loin d'être parfaite et elle a été souvent critiquée.

Pour SCHRATZ (1931) les valeurs obtenues sont inférieures à la réalité : la transpiration d'après cet auteur diminuant rapidement après la section. Mais la méthode gazométrique qu'il propose paraît bien encombrante pour être utilisée dans la nature.

Pour IVANOFF (1928) au contraire, on brise par la section, la tension de cohésion à l'intérieur des vaisseaux et la transpiration serait augmentée.

KAMP (1930), FIRBAS (1931) reconnaissent une augmentation de la transpiration dans de nombreux cas. Mais, nous dit KAMP, « on ne saurait prédire le moment où apparaît le phénomène ». Toutefois il ressort de ses expériences que cette augmentation n'est appréciable que trois à cinq minutes après la section.

Ces divergences devaient amener PFLEIDERER, élève de HARDER à faire en 1930 un « examen critique de la méthode de transpiration des rameaux coupés » et il conclut en disant que cette méthode donne presque toujours des résultats satisfaisants à condition que le temps d'exposition soit compris entre deux et quatre minutes. Passé ce temps, — et surtout après dix minutes — la détermination est inférieure à la réalité. Nous avons pu nous mêmes vérifier ces conclusions. Cette méthode reste à l'heure actuelle la seule pratique et d'un emploi courant.

MESURE DE LA TRANSPIRATION

A) Précautions à prendre

L'étude de la transpiration ne donne des renseignements vraiment intéressants sur la physiologie d'un végétal que si les expériences sont répétées à différentes saisons.

Les mesures de transpiration pour être comparables, doivent

être effectuées soit sur le même pied, lorsque cela est possible, soit sur des pieds très voisins, en tous cas toujours au même lieu et dans des conditions stationnelles rigoureusement identiques.

Il est nécessaire, à moins de recherches spéciales sur l'action du vent, d'expérimenter durant des journées ensoleillées et calmes.

On repérera un endroit correspondant au milieu biologique habituel du végétal examiné ; de préférence cette plante sera choisie au sein de son association naturelle.

La balance, type balance portative de BUNGE STOCKER (Pl. XXXI), est montée sur un pied transportable, et placée à l'abri du vent et du soleil ; une tente est en général indispensable.

Si l'on s'adresse à des arbres, des arbustes ou des arbrisseaux, il convient de faire porter les expériences sur des feuilles d'âge et de surface déterminées situées à la même hauteur sur le végétal (1) : on pourra, par exemple, sectionner au ciseau les extrémités des rameaux. Chaque prélèvement sera constitué par trois à quatre grammes de plante.

B) Technique suivie

Le végétal récolté aussi rapidement que possible, est placé dans un gobelet préalablement taré. On pèse, puis on déclanche le chronomètre et on replace l'extrémité coupée sur la branche à l'endroit de section. Si on examine une plante herbacée, on étend sur un écran, de façon à ne perdre aucun fragment. Il est préférable de choisir cet écran de couleur verte.

Après une minute cinquante secondes, les feuilles sont remises dans le gobelet et on procède à la deuxième pesée : il s'est ainsi écoulé exactement deux minutes entre la première et la deuxième pesée.

Par différence, on calcule la quantité d'eau perdue. Si l'on veut exprimer l'intensité de la transpiration par millimètre carré de surface, on mesure avec un planimètre, la surface des feuilles examinées.

(1) En effet ZALENSKI (1904) a montré que la structure anatomique des feuilles d'un végétal est en fonction de leur place sur la tige ; les feuilles basales ont une structure plus mésophile que les feuilles supérieures, parce qu'elles sont plus accessibles aux courants de sève ascendants. Depuis, de nombreux travaux MAXIMOV (1916), JAPP (1912), ALEXANDROW (1927), ont confirmé par la mesure de la transpiration la valeur physiologique de cette observation.

Ces feuilles sont ensuite placées dans un sachet ou dans une enveloppe et étiquetées. Elles serviront, de retour au laboratoire, à la détermination de la substance sèche et du contenu en eau.

La transpiration sera ainsi suivie d'heure en heure du lever au coucher du soleil et sur place, dans l'habitat du végétal. On déterminera également d'heure en heure l'évaporation et les variations des principaux facteurs microclimatiques au lieu de l'expérience : *luminosité, température, degré hygrométrique* de l'atmosphère. On devra également déterminer la teneur en eau du sol (1).

L'état hygrométrique de l'atmosphère a été lu sur un hygromètre à cheveux de RICHARD.

Toutefois cette détermination ne définit que grossièrement la teneur de l'atmosphère en eau. Selon la température, un même état hygrométrique peut représenter une atmosphère très proche ou au contraire très éloignée de son point de saturation en vapeur d'eau.

Pour éviter cet écueil nous avons déterminé chaque fois le *déficit hygrométrique*, c'est-à-dire l'écart entre le poids de vapeur d'eau trouvé dans un mètre cube d'air et le poids de vapeur contenu dans un même volume d'air saturé et à la même température.

Tous les résultats indiqués sur les tableaux et par les courbes expriment le *déficit hygrométrique* et non pas l'état hygrométrique.

L'intensité lumineuse a été déterminée au moyen du photo-électromètre portatif du docteur LANGE, basé sur le même principe que la cellule photométrique de WALTER. On lit la valeur de la lumière exprimée en lux, par la mesure du courant qu'elle engendre et dont l'intensité est donnée par un microampèremètre. (Voir la description de VOLK 1934).

L'évaporation a été déterminée au moyen de l'évaporimètre de PICHE à rondelle de 3 cm. de diamètre, elle a été exprimée en centimètres cubes (2).

(1) On pourra s'étonner que nous n'ayons pas cru devoir étudier parmi les facteurs microclimatiques, l'intensité du vent au moment de chaque prélèvement. Certes nous ne méconnaissons pas toute l'importance de ce facteur dans l'étude de la transpiration des végétaux et c'est précisément pour éviter une saute brusque de vent au moment de nos mesures que nous avons constamment opéré par journées parfaitement ensoleillées et calmes.

(2) Nos résultats exprimés en centimètres cubes (ou grammes) sont rapportés à la totalité de la surface évaporatrice de la rondelle, soit 13 centimètres carrés ; ils sont donc 1,3 fois plus élevés que les chiffres donnés par les stations météorologiques qui indiquent le nombre de millimètres d'eau évaporée par centimètre carré, ce qui correspond au nombre de décigrammes d'eau évaporée.

Quant au jeu des stomates il a été suivi par la méthode d'infiltration à l'alcool et xylol de MOLISCH.

RÉSULTATS

Nous nous sommes proposés plus particulièrement l'étude des rapports de la transpiration d'un certain nombre d'espèces de la région languedocienne avec les facteurs écologiques. Toutefois pour expliquer certaines particularités, on trouvera parfois indiquées les variations du contenu en eau des différentes espèces. Quant aux relations entre la transpiration et les autres facteurs internes (pression osmotique, pH, résistivité, substances dissoutes), elles ont été étudiées chez quelques-uns de ces végétaux par l'un de nous (1).

Afin d'obtenir, dans la mesure du possible de notre enquête, des renseignements d'ordre général, notre choix s'est porté tantôt sur des espèces « euméditerranéennes » c'est-à-dire bien adaptées au climat méditerranéen, tantôt « subméditerranéennes », d'autres même « eurosibériennes » (*Bromus erectus* et *Cornus sanguinea*) et par conséquent en général, à la limite de leur aire d'extension.

Tous ces végétaux appartiennent à différentes formes biologiques ; certains sont des nanophanérophytes (arbustes), les autres des chamaephytes et des hémicryptophytes (associations herbacées) ; ils ont été étudiés soit dans leurs associations, soit dans des conditions biologiques différentes, avec l'espoir de saisir ainsi leur réaction à l'influence du « milieu ».

Ont été étudiées d'une façon systématique, de mois en mois, et chaque fois du lever au coucher du soleil, les espèces suivantes : *Arbutus unedo*, *Arbutus andrachne*, *Erica arborea*, *Erica scoparia*, *Erica multiflora*. Nous avons choisi, d'autre part, comme représentants des associations herbacées : *Brachypodium phoenicoides* et *Bromus erectus*.

De plus, comme termes de comparaison, nous avons étudié, à intervalles plus ou moins réguliers :

Pinus halepensis, *Laurus nobilis*, *Calluna vulgaris*, *Coriaria*

(1) J. GIROUX. — Recherches biologiques sur les Ericacées languedociennes, pl. L-XVI, 1-210, 25 fig., 17 graph., 45 tabl., VIII pl. Comm. n° 47. S.I.G.M.A., Montpellier, 1936.

myrtifolia, *Cornus sanguinea*, *Picris umbellata*, *Centaurea aspera*, *Stipa aristella*, *Medicago falcata*, *Foeniculum piperitum*, *Urospermum Daleschampi*, *Hypochaeris radicata*.

Nous avons choisi comme champs d'expériences les localités suivantes, parce qu'elles nous offraient, côte à côte, des associations à plantes ligneuses et des pelouses herbacées :

- a) Mezouls.
- b) Fontfroide.
- c) Veyrassy.

TABLEAU N° 1

Conditions microclimatiques dans le sous-bois de Mezouls à l'endroit des prélèvements.

ARBUTUS UNEDO et *A. ANDRACHNE*
à 1 m. 80 de hauteur.

DATES	TEMPÉRATURE DEGRÉS		DÉFICIT HYGROMÉT. GRAMMES		LUMIÈRE LUX		ÉVAPORATION CM ³	
	MAT.	MIDI	MAT.	MIDI	MAT.	MIDI	MAT.	MIDI
12 juin 1934 ...	22	29	6	15,6	—	—	1	6
10 juillet.....	24	27	3,4	7,5	—	—	0,5	4,2
26 août.....	22	30	6,4	16,2	600	1.800	1	8
18 septembre...	18	24	2	8	690	1.700	1	3
21 novembre...	5	10	1	4	340	1.160	1	2
23 janvier 1935 .	4	6	1	3	260	920	0,5	2
2 avril.....	11	16	6	8,7	650	2.200	1	4,7
22 juin.....	26	31	11	17	530	1.200	2,3	6,3

ERICA ARBOREA et *E. SCOPARIA*
à 1 m. 20 de hauteur

12 juin 1934	15,5	29	8,2	15,3	—	—	1	6,5
10 juillet.....	22	28	1	9	—	—	0,5	4
26 août.....	15	30	6	18	530	1.350	2	5,3
18 septembre...	17	25	1	7	600	1.500	0,5	2,5
21 novembre...	6	8	1	3	350	1.200	0,2	1,5
23 janvier 1935..	1	6	1	2	220	850	0,2	1,2
2 avril.....	8	16	2	7	570	2.200	0,5	3
22 juin.....	26	30	12	16	480	1.100	1,2	5

Enfin, nous nous sommes placés dans des conditions écologiques différentes avec la Campagne « Les Pommettes », quartier de l'Aiguelongue.

PLANTES LIGNEUSES

Mezouls

Le bois de Mezouls (12 km. de Montpellier) est un bois mixte formé par l'association à *Quercus ilex* avec celle à *Quercus pubescens*.

La végétation répond au *Quercetum ilicis galloprovincialis*, facies à *Carex distachya* et *Viburnum tinus*, décrit par BRAUN-BLANQUET (1935).

Ce bois est situé sur une terrasse formée d'alluvions quaternaires du Rhône. On y rencontre de nombreux cailloux roulés, sili-
ceux et recouverts d'une faible couche de terre fine (30 cm.).

Nous avons étudié à Mezouls : *Arbutus unedo*, *Erica arborea*, *Erica scoparia*, *Pinus halepensis*, *Calluna vulgaris*, et une espèce d'ailleurs eu-méditerranéenne mais introduite en ce bois il y a environ un siècle : *Arbutus andrachne*.

Interprétation des résultats

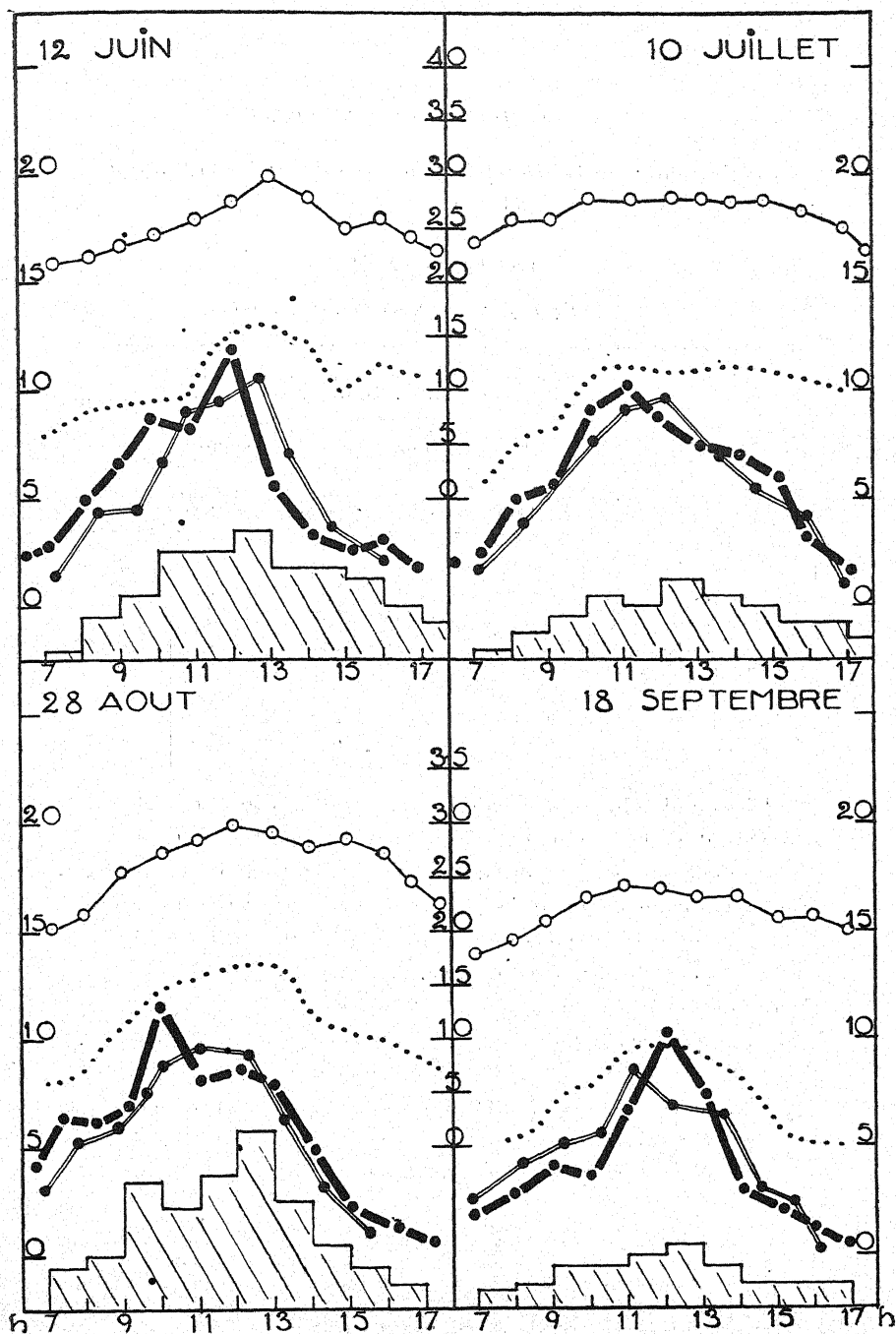
ARBUTUS UNEDO

Arbutus unedo, d'allure mésophile par sa morphologie et son anatomie appartient à l'association à *Quercus ilex*.

C'est une espèce subméditerranéenne avec quelques avant-postes plus septentrionaux (Irlande). L'enracinement est profond. L'arbousier se présente le plus souvent comme un arbre de 3 à 5 mètres de hauteur.

Toutes les expériences ont porté sur le même pied qui était âgé d'environ 20 ans et haut de 3 mètres. Les prélèvements ont eu lieu à 1 m. 80 environ.

On se rend compte, par l'examen du graphique 1 et des tableaux 1 et 2, qu'au cours des quatre mois d'été, et malgré des conditions microclimatiques peu élevées pour notre région, l'intensité de la transpiration d'*Arbutus unedo* est relativement grande ; le maximum



Graphique n° 1. — Courbes journalières de transpiration d'*Arbutus unedo* et d'*Arbutus andrachne* à Mezouls.

- | | | |
|-------|--------------------------|---|
| ■ — ■ | <i>Arbutus unedo</i> | } Transpiration en mmgr. par gramme de substance fraîche et par minute (Echelles externes). |
| ● — ● | <i>Arbutus andrachne</i> | |
| o — o | Température | } Echelles internes. |
| | Déficit hygrométrique | |

qui s'établit entre 11 heures et 12 heures va de 10,2 à 11,9 mmg. par gramme de substance fraîche (1).

TABLEAU N° 2
ARBUTUS UNEDO (Mezouls)

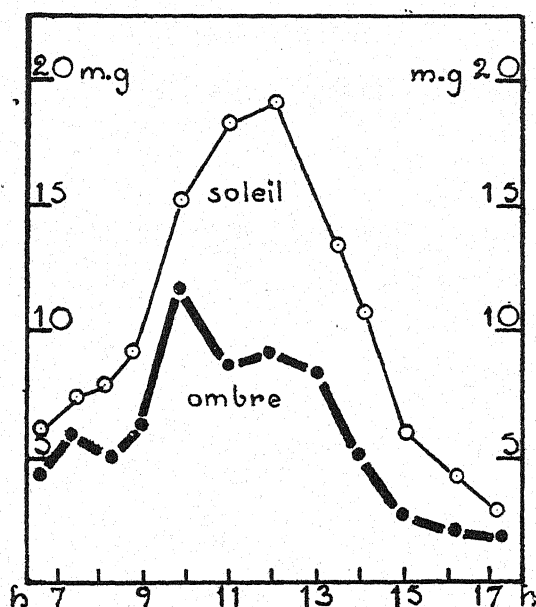
DATES	TRANSPIRATION EN MG. PAR MINUTE ET PAR GRAMME DE SUBSTANCE :				CONTENU EN EAU DU VÉGÉTAL %
	FRAICHE			SÈCHE	
	MATIN MINIM.	MIDI MAXIM.	MOYENNE JOURNAL.	MOYENNE JOURNAL.	
12 juin 1934	2,5	11,9	5,3	17,6	70
10 juillet.....	2,4	10,3	5,8	17,5	67
28 août.....	4,2	11,7	5,5	14,1	61
18 septembre.....	2,3	10,3	4,9	12,2	60
21 novembre	0,6	1,3	0,9	2,3	61
22 janvier 1935.....	0,5	1,9	1,0	2,4	58
1 ^{er} avril	1,1	3,5	2,0	4,9	59
22 juin	2,8	10,2	6,4	19,4	67

Et il semble bien que l'on doive chercher la raison de cette particularité dans la teneur du sol en eau (11% à 40 cm. en juin). Ce chiffre, bien qu'il soit supérieur à celui obtenu pour le sol de Fontfroide à la même époque (6,5% à 40 cm.), ne traduit pas d'une façon exacte la quantité d'eau qui se trouve à la disposition d'*Arbutus unedo* : Les racines pénétrant jusqu'à 2 m. — 2 m. 50, les poils absorbants ont certainement, à ce niveau, une quantité d'eau beaucoup plus considérable à leur disposition. Aussi les feuilles d'*Arbutus unedo* contiennent 70 % d'eau de leur poids à l'état frais en juin, et encore 61% en août. Or, on sait l'influence prépondérante exercée par l'humidité du sol sur la transpiration; c'est en effet l'absorption qui fournit la presque totalité de l'eau transpirée.

(1) On peut nous objecter que nos résultats sont rapportés au poids de la substance sèche ou fraîche et non pas à la surface. Nous reconnaissons toute l'importance de cette observation. Mais nous ferons remarquer que nous avons entrepris ici une étude comparative de la transpiration chez les espèces languedociennes, et nous ne pouvions songer, pour les espèces appartenant au genre *Erica*, à rapporter nos résultats à la surface, car, en dehors de la difficulté de mesurer la surface de 2 à 3.000 feuilles qui constituent un prélèvement normal de 3 à 4 grammes de feuilles d'*Erica*, le coefficient d'erreur devient tel qu'il enlève une grande partie de leur valeur aux données ainsi obtenues.

Une autre remarque d'ordre général qui s'impose, c'est la légère discordance existant entre les variations mensuelles des facteurs microclimatiques et l'intensité respiratoire. C'est ainsi que les valeurs de la transpiration sont les plus élevées en juin, alors que celles de la température et du déficit hygrométrique sont un peu plus fortes en août.

De même, l'allure des courbes des facteurs microclimatiques est,



Graphique n° 2. — Courbes journalières de transpiration d'*Arbutus unedo*, à l'ombre et au soleil, le 28 août 1934, à Mezuols.

Transpiration en mmgr. par gramme de substance fraîche et par minute.

au cours d'une journée, beaucoup plus uniforme que la marche de la transpiration ; celle-ci, en effet, très faible le matin (environ 2-3) s'accroît fortement vers midi (10-11) pour redescendre assez rapidement à 2 le soir.

Mais nous ne devons pas oublier que nous opérons dans un sous-bois et qui plus est dans un sous-bois à clairières. Il était dès lors facile de prévoir que, parmi tous les facteurs microclimatiques, le plus important serait dans ce cas le facteur lumière.

Principalement durant les mois d'été, suivant qu'un rameau sera au soleil ou à l'ombre, il transpirera plus ou moins.

Nous n'avons pu, à notre grand regret, déterminer l'intensité lumineuse lors de chaque prélèvement, mais l'examen du graphique 2 montrera toute l'importance de ce facteur.

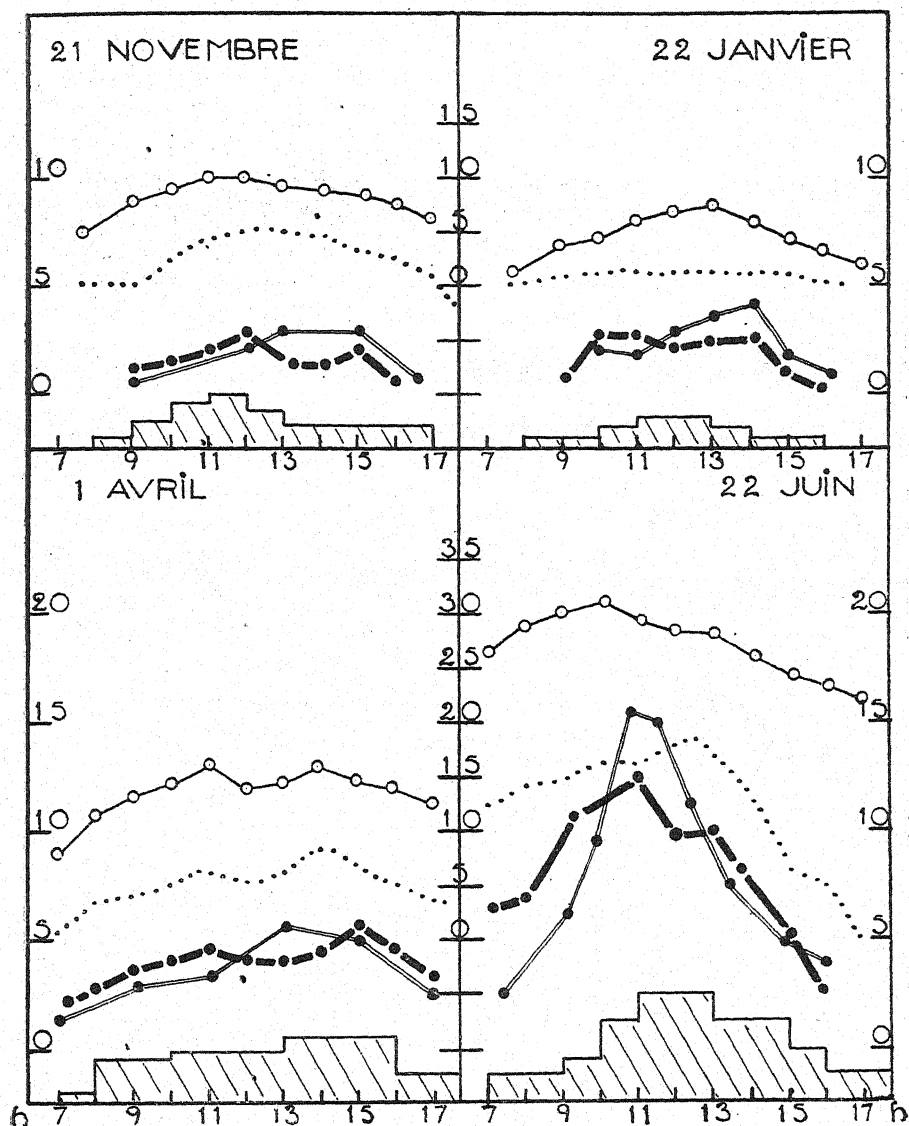
Le 28 août 1934, la transpiration a été suivie d'heure en heure sur *Arbutus unedo* en effectuant chaque fois les prélèvements simultanément à l'ombre et au soleil.

Nous voyons qu'en pleine lumière la transpiration est toujours plus grande et que sa valeur augmente de près du double. Il existe donc un rapport évident entre la transpiration et l'intensité lumineuse, mais les variations sont loin d'être proportionnelles ; en effet, alors que l'intensité lumineuse augmente au cours de cette expérience dans un rapport de 1 à 12 (1.800 lux à l'ombre et 22.000 lux au soleil à midi), la transpiration a simplement doublé sa valeur ; d'autre part l'élévation de l'intensité lumineuse va de pair avec une augmentation des autres facteurs microclimatiques et plus particulièrement de la température.

Nous avons répété cette expérience en septembre, et nous avons retrouvé la même différence. Il est d'ailleurs remarquable de noter, qu'en raison des conditions microclimatiques encore élevées en

TABLEAU N° 3
ARBUTUS ANDRACHNE (Mezouls)

DATES	TRANSPIRATION EN MG. PAR MINUTE ET PAR GRAMME DE SUBSTANCE :				CONTENU EN EAU DU VÉGÉTAL %
	FRAICHE			SÈCHE	
	MATIN MINIM.	MIDI MAXIM.	MOYENNE JOURNAL.	MOYENNE JOURNAL.	
12 juin 1934	1,1	10,8	5,9	21	72
10 juillet	2,4	9,5	4,4	15,2	71
28 août	3,1	9,9	5,5	12,8	57
18 septembre	2,1	7,9	5,0	11,6	57
21 novembre	0,3	1,2	0,8	2,0	58
22 janvier 1935	0,4	1,7	1,0	2,3	57
1 ^{er} avril	1,0	3,1	1,9	4,7	59
22 juin	4,8	12,5	8,3	27,5	70



Graphique n° 5. — Courbes journalières de transpiration d'*Erica arborea* et d'*Erica scoparia* à Mezouls.

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> ●—● <i>Erica arborea</i> ●=● <i>Erica scoparia</i> o—o Température Déficit hygrométrique | } Transpiration en mmgr. par gramme de substance fraîche et par minute (Echelles externes).
} Echelles internes. |
|---|---|

Évaporation, bloc, hachuré, sans échelle.

septembre, dans la région languedocienne, la transpiration des végétaux reste assez forte.

La lumière exerce, par contre, en hiver, une influence beaucoup moins importante sur la transpiration (1,8 mmg. au soleil et 1,4 mmg. à l'ombre). Il est vrai qu'à cette époque l'abaissement de tous les facteurs microclimatiques et principalement de la température, réduit considérablement la transpiration dont le maximum au cours de la journée n'arrive pas à 2 mmg. (graphique 3).

Printemps

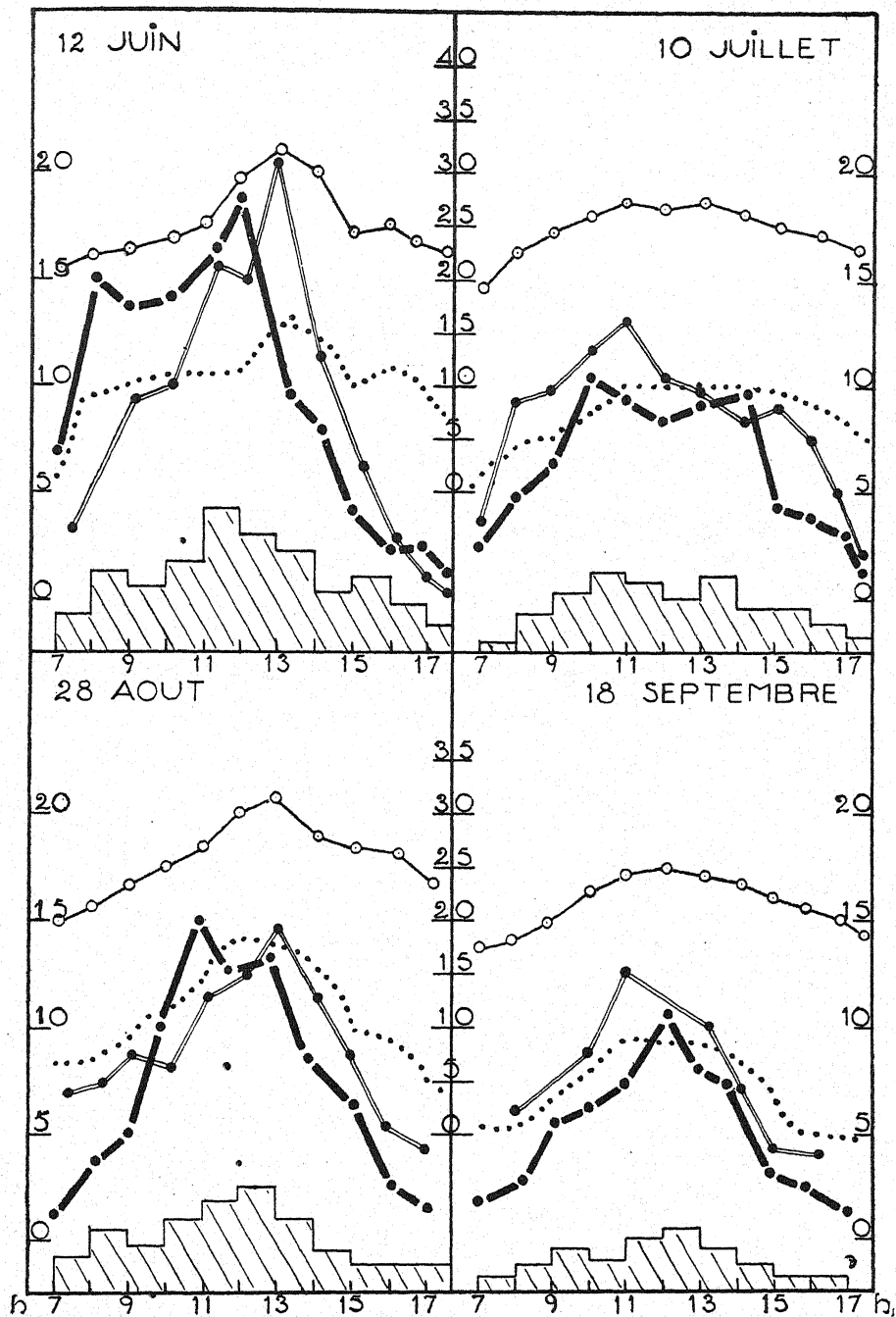
L'état de vie ralentie qui commence pour cette espèce dès le mois de novembre, se poursuit, dans le sous-bois, une grande partie du printemps. Le graphique 3 nous montre en effet, en avril, une transpiration faible correspondant d'ailleurs à des valeurs peu élevées des facteurs microclimatiques.

En juin 1935, par contre, nous retrouvons une courbe de transpiration dont l'allure et l'intensité ne diffèrent que *très peu* de celle obtenue en juin 1934, et nous voyons par là que les chiffres indiqués pour la transpiration d'*Arbutus unedo*, dans le sous-bois de Mezouls, au cours de l'année 1934-35, peuvent dans une large mesure, être généralisés.

TABLEAU N° 4

ERICA ARBOREA (Mezouls)

DATES	TRANSPIRATION EN MG. PAR MINUTE ET PAR GRAMME DE SUBSTANCE :				CONTENU EN EAU DU VÉGÉTAL %
	FRAICHE			SÈCHE	
	MATIN MINIM.	MIDI MAXIM.	MOYENNE JOURNAL.	MOYENNE JOURNAL.	
12 juin 1934	5,2	18,2	9,9	35,6	75
10 juillet	3,2	10,1	6,4	20,0	68
28 août	2,5	14,8	6,8	18,8	64
18 septembre	2,0	10,3	4,8	13,0	63
21 novembre	0,4	3,0	1,2	3,3	65
22 janvier 1935	0,8	3,1	2,0	5,0	61
1 ^{er} avril	2,5	5,2	4,3	11,6	63
22 juin	6,9	12,1	7,1	22,3	68



Graphique n° 4. — Courbes journalières de transpiration d'*Erica arborea* et d'*Erica scoparia* à Mezouls.

- | | |
|-----------------------------|---|
| ●—● <i>Erica arborea</i> | } Transpiration en mmgr. par gramme de substance fraîche et par minute (Echelles externes). |
| ●—● <i>Erica scoparia</i> | |
| o—o Température | } Echelles internes. |
| Déficit hydrométrique | |

Évaporation, bloc hachuré, sans échelle.

ARBUTUS ANDRACHNE

Bien qu'*Arbutus andrachne* ait été introduit dans le sous-bois de Mezouls, il semble réagir, quant à la transpiration, de la même façon qu'*Arbutus unedo*, aux variations des facteurs écologiques (Graph. 1 et 3).

Seules quelques modalités différencient cette espèce au cours des mois chauds de l'année ; en hiver, par contre, la courbe se confond presque exactement à celle d'*Arbutus unedo*, à tel point que nous avons dû renoncer à l'inscrire sur le graphique (v. tableaux 2 et 3).

Il est vrai qu'*Arbutus andrachne* est une espèce euméditerranéenne, que le port, l'enracinement, la morphologie et l'anatomie situent très près d'*Arbutus unedo*.

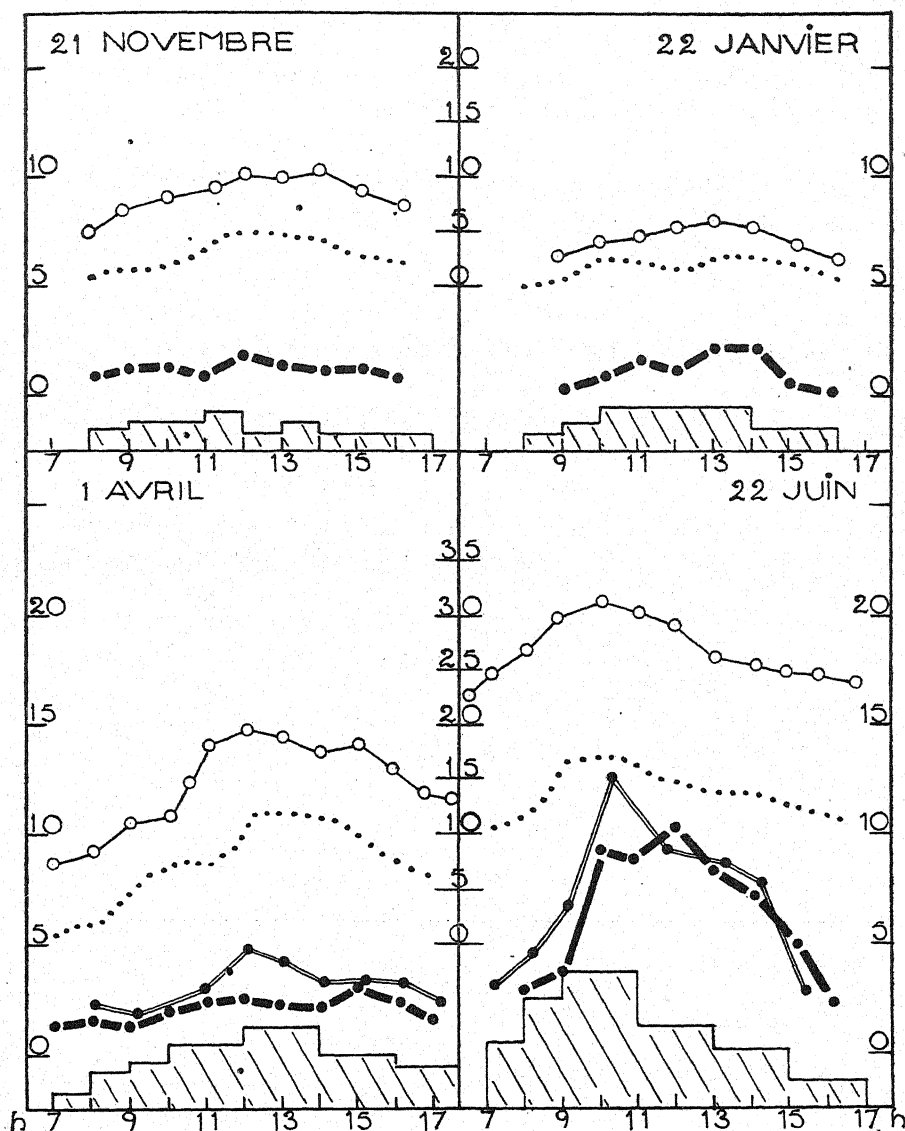
ERICA ARBOREA

Erica arborea, espèce subméditerranéenne peu prononcée (1) a le port d'un arbuste de deux à trois mètres de hauteur ; son enracinement est puissant et assez profond, deux mètres environ. Les prélèvements ont été effectués à 1 m. 80 sur un pied d'*Erica arborea* âgé d'environ quinze ans.

Malgré son allure xérique, et ses feuilles du type « éricoïde » parfait, *Erica arborea* transpire davantage qu'*Arbutus unedo* dans des conditions microclimatiques comparables. Cet écart est encore accentué lorsqu'on rapporte l'intensité de transpiration non pas à la substance fraîche, mais à la substance sèche (v. Graph. 4 et 5 et tableau 4).

D'ailleurs cette forte transpiration, trouve son explication normale dans le contenu en eau d'*Erica arborea* qui dépasse 75% du poids de substance fraîche au mois de juin, et nous ne pouvons que confirmer les observations de SCHRATZ (1931) et SZYMKIEWICZ (1932) pour lesquels il est impossible de déduire l'intensité de la transpiration de la structure anatomique des feuilles. On ne peut d'ailleurs invoquer davantage, dans ce cas, le déficit d'azote, comme le veut

(1) La limite septentrionale de cette espèce se trouve en effet à Chiavenna sur le versant sud des Alpes suisses.



Graphique n° 3. — Courbes journalières de transpiration d'*Arbutus unedo* et d'*Arbutus andrachne* à Mezouls.

- | | |
|------------------------------|---|
| ●—● <i>Arbutus unedo</i> | } Transpiration en mmgr. par gramme de substance fraîche et par minute (Echelles externes). |
| ●=● <i>Arbutus andrachne</i> | |
| o—o Température | } Echelles internes. |
| Déficit hygrométrique | |

Évaporation, bloc hachuré, sans échelle.

MOTHES (1932). Les caractères xéromorphiques de cette espèce paraissent être des caractères génotypiques.

Mais si les courbes de transpiration d'*Erica arborea* ont toujours une valeur supérieure à celles d'*Arbutus unedo*, leur allure au cours de l'année reste la même.

On constate là encore, pendant l'hiver, une diminution notable et très longue de l'activité physiologique. De même, au cours des mois d'été, la transpiration augmente fortement dans la matinée, pour atteindre son maximum vers midi; elle diminue ensuite très rapidement au cours de l'après-midi.

Cette particularité ne peut guère s'expliquer par les variations des facteurs microclimatiques, et il faut admettre, semble-t-il, une réaction du végétal contre la perte d'eau importante des journées estivales. On sait en effet que la concentration du suc soit par perte d'eau, soit en raison des transformations physicochimiques du protoplasme des cellules stomatiques (hydrolyse de l'amidon, ILJINE (1927) peuvent amener la fermeture des ostioles et ralentir de la sorte considérablement la transpiration.

On constate en effet à cette époque, que les stomates largement ouverts jusqu'à midi, se contractent progressivement au cours de l'après-midi, pour être complètement fermés vers 17-18 heures.

TABLEAU N° 5

ERICA SCOPARIA (Mezouls).

DATES	TRANSPIRATION EN MG. PAR MINUTE ET PAR GRAMME DE SUBSTANCE :				CONTENU EN EAU DU VÉGÉTAL %
	FRAICHE			SÈCHE	
	MATIN MINIM.	MIDI MAXIM.	MOYENNE JOURNAL.	MOYENNE JOURNAL.	
12 juin 1934	2,6	20,3	8,6	40,0	78,5
10 juillet.....	3,0	13,0	8,7	28,2	69,2
28 août.....	6,6	14,8	9,1	28,4	68
18 septembre.....	5,8	12,5	7,8	23,2	66,5
21 novembre.....	0,3	3,0	2,1	6,1	66
22 janvier 1935.....	1,8	3,3	2,8	7,3	62
1 ^{er} avril.....	1,7	5,2	3,1	8,3	63
22 juin.....	2,5	15,1	7,1	23,6	70

Ce comportement des stomates au cours des journées d'été, n'est d'ailleurs pas spécial à *Erica arborea*, puisque nous l'avons retrouvé à Mezouls chez *Erica scoparia*, *Arbutus unedo* et *Arbutus andrachne*.

Pendant la période hivernale, la transpiration d'*Erica arborea* bien que faible, reste encore un peu plus élevée que celle d'*Arbutus unedo* ; même à cette époque, l'activité physiologique d'*Erica arborea* paraît donc être supérieure.

D'autre part, nous constatons (v. tableau 2 et 4) pour *Erica arborea* et *Arbutus unedo* une moyenne journalière de transpiration un peu plus élevée en janvier qu'en novembre, malgré une richesse en eau du protoplasme plus faible. C'est que les valeurs des facteurs microclimatiques étaient plus élevées en janvier (le mois de janvier est en général très beau et sec dans la région languedocienne), et nous saisissons une fois de plus l'importance du microclimat sur la transpiration; nous retrouvons d'ailleurs au printemps cette influence du milieu qui se manifeste par un retard apporté dans le réveil de l'activité physiologique. En avril, comme chez *Arbutus unedo*, la transpiration est encore relativement faible.

ERICA SCOPARIA

De même que nous avons pu comparer facilement les graphiques de transpiration d'*Arbutus andrachne* à ceux d'*Arbutus unedo*, de même les courbes d'*Erica scoparia* calquent leur allure sur celles d'*Erica arborea*, avec des valeurs un peu plus élevées parfois, mais en tout cas très rapprochées (Graph. 4 et 5 et tableau 5).

Ces deux espèces sont d'ailleurs très voisines par leur morphologie, leur anatomie et même par leur contenu en eau (76% en juin pour *Erica arborea*, 80% pour *Erica scoparia*).

En définitive, chez les quatre espèces arbustives que nous avons étudiées dans le sous-bois de Mezouls, l'allure des courbes journalières diffère profondément avec la saison : tandis qu'en été la courbe passe par un ou deux maximum très élevés vers le milieu de la journée, et redescend à la fin de l'après-midi, en hiver, au contraire, la moyenne de transpiration est beaucoup plus faible mais l'allure de la courbe plus uniforme.

Cependant nous ferons remarquer, que, même à cette saison, les végétaux que nous avons étudiés dans la forêt ont une transpi-

ration relativement forte en raison de la douceur de l'hiver dans la région méditerranéenne.

D'autre part, chez les Ericacées étudiées, et malgré une structure morphologique et anatomique différente, la marche de la transpiration suit au cours de l'année un rythme uniforme.

Ce fait est particulièrement intéressant à souligner dans le cas d'*Arbutus andrachne*, espèce introduite et dont la transpiration suit néanmoins pas à pas celle d'*Arbutus unedo*. Mais de plus, *Erica arborea* et *Erica scoparia* malgré leur xéromorphie apparente, transpirent davantage que les deux espèces du genre *Arbutus*.

D'ailleurs, la transpiration de ces quatre Ericacées s'est révélée assez forte et l'étude de l'intensité transpiratoire de deux autres espèces arbustives : *Laurus nobilis* et *Pinus halepensis* nous donne des chiffres beaucoup plus bas, pour les mois d'avril et de juin. Chez ces deux espèces, les stomates sont restés à peu près complètement fermés au cours de nos expériences aussi bien en avril qu'en juin.

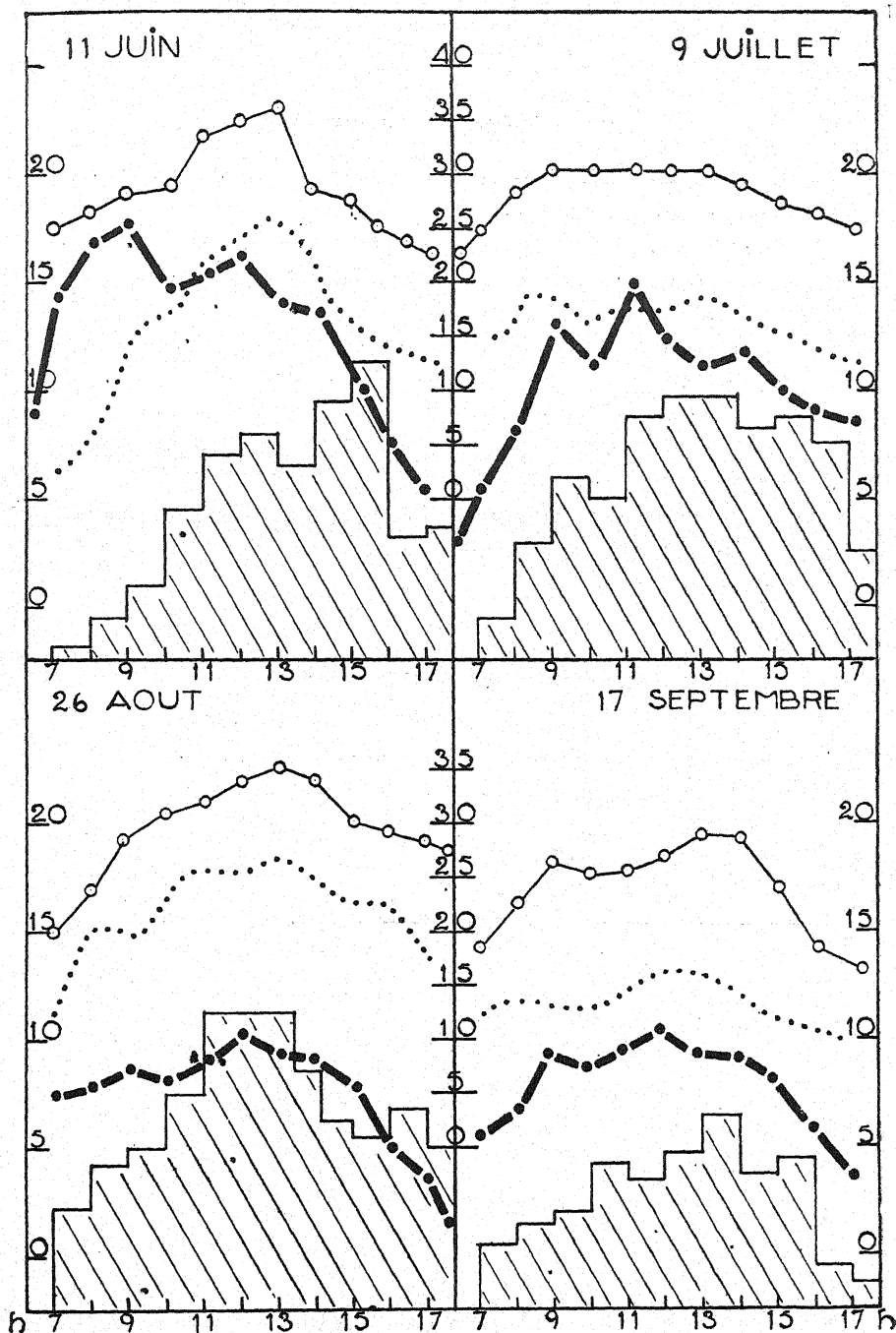
PINUS HALEPENSIS

1 ^{er} Avril à Mezouls		2 Avril à Fontfroide.	
Heure	Transpiration	Heure	Transpiration
9,15	1,8 mg.	8,45	4,1 mg.
12,30	2,2 —	10,35	13,5 —
15,15	1,5 —	12,45	10,2 —
16,30	0,8 —	14,40	7,9 —

LAURUS NOBILIS

1 ^{er} Avril à Mezouls	
Heure	Transpiration
9,20	1,7 mg.
11,15	1,9 —
14,10	2,4 —
16,40	1,9 —

Il est vrai que ces deux végétaux, bien qu'ils fussent soumis approximativement aux mêmes conditions microclimatiques que les Ericacées étudiées, étaient cependant dans un endroit plus om-



Graphique n° 6. — Courbes journalières de transpiration d'*Erica multiflora* à Fontfroide.

●—● *Erica multiflora* { Transpiration en mmgr. par gramme de substance fraîche et par minute (Echelles externes).
 o — o Température { Echelles internes.
 Déficit hygrométrique

bragé ; or, on sait toute l'importance du facteur lumière sur le degré d'ouverture des stomates (1).

Nous verrons plus loin que, dans des conditions microclimatiques différentes, *Pinus halepensis* transpirait beaucoup plus à la même époque.

A vrai dire pour *Laurus*, la fermeture des stomates n'est peut être pas due uniquement à la faible intensité lumineuse. A l'encontre de ce qu'on pourrait croire, cette espèce ne contient en effet qu'une faible quantité d'eau (52% en juin 1935 contre 65% pour *Pinus halepensis* et 68% pour *Erica arborea*).

Quoi qu'il en soit et malgré la complexité bien connue des rapports entre le degré d'ouverture des stomates et l'intensité de transpiration, une certaine relation semble exister entre les deux, pour les espèces étudiées à Mezouls.

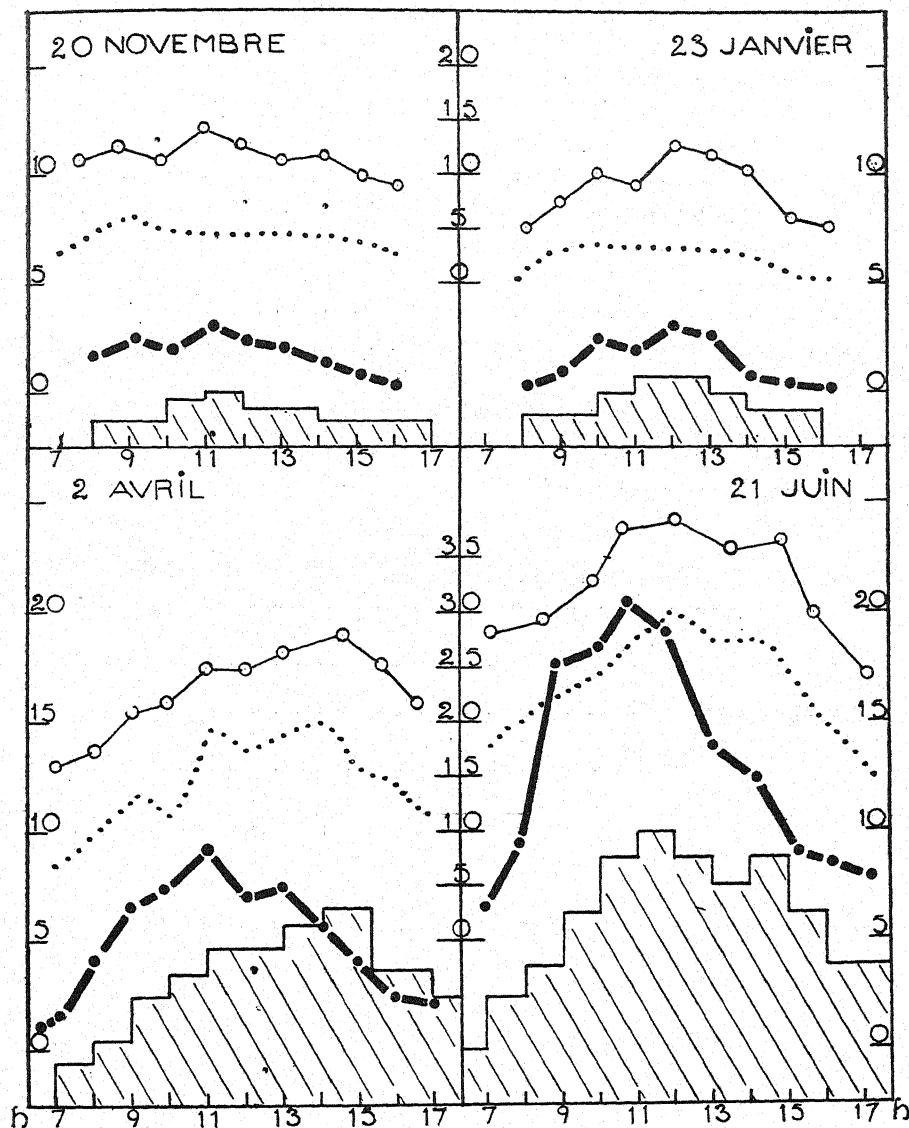
Fontfroide

La colline de « La Tour Piquet » située à Fontfroide (7 km. de Montpellier), exposée au sud-est, a une pente d'environ 10-15° ; elle est recouverte en partie par l'association à *Rosmarinus officinalis* et

TABLEAU N° 6
ERICA MULTIFLORA (Fontfroide).

DATES	TRANSPIRATION EN MG. PAR MINUTE ET PAR GRAMME DE SUBSTANCE :				CONTENU EN EAU DU VÉGÉTAL %
	FRAICHE			SÈCHE	
	MATIN MINIM.	MIDI MAXIM.	MOYENNE JOURNAL.	MOYENNE JOURNAL.	
11 juin 1934	9,5	17,4	13,1	23,6	44,5
9 juillet	3,2	14,7	9,9	18	45
26 août	7,2	10,1	8,1	14,4	44
17 septembre	3,4	8,5	6,3	10,8	42
20 novembre	1,6	3,1	2,1	3,7	44
23 janvier 1935	1,0	3,1	2,7	4,7	43
2 avril	1,8	9,1	5,4	9,1	41
21 juin	4,3	19,2	12,7	22,5	43,5

(1) Dans un travail récent Mme SOLOVSKY-IRTEL (1934) a démontré par diverses expériences, que, chez l'*Impatiens Sultani*, les phénomènes d'ouverture et de fermeture des stomates sont sous le contrôle du facteur lumière.



Graphique n° 7. — Courbes journalières de transpiration d'*Erica multiflora* à Fontfroide.

- | | |
|---|---|
| $\bullet-\bullet$ <i>Erica multiflora</i> | { Transpiration en mmgr. par gramme de substance fraîche et par minute (Echelles externes).
} Echelles internes. |
| $o-o$ Température | |
| Déficit hygrométrique | |

Évaporation, bloc hachuré, sans échelle.

Lithospermum fruticosum; le degré de couverture est d'environ 80%. Les espèces ligneuses (*Rosmarinus officinalis*, *Erica multiflora*, *Pinus halepensis*) ont une hauteur de 0 m.80 à 1 mètre.

Le sol est marneux, humide en hiver (30% d'eau en volume, à 30 cm. de profondeur) très sec l'été (6 % en volume). Le substratum est formé de marnes calcaires imperméables.

Deux espèces ligneuses ont été étudiées en cet endroit : l'une *Erica multiflora* de mois en mois pendant l'année 1934-1935, l'autre *Pinus halepensis* accessoirement et comme terme de comparaison.

TABLEAU N° 7

Conditions microclimatiques dans le *Rosmarineto-Lithospermetum* à Fontfroide, à l'endroit des prélèvements.

ERICA MULTIFLORA

à 1 m.20 de hauteur.

DATES	TEMPÉRATURE		DÉFICIT		LUMIÈRE		ÉVAPORATION	
	DEGRÉS		GRAMMES		LUX		cm ³	
	MAT.	MIDI	MAT.	MIDI	MAT.	MIDI	MAT.	MIDI
11 juin 1934....	25	35	11,8	25,2	—	—	0,1	0,9
9 juillet.....	25	30	15,7	17,2	—	—	0,2	1,2
26 août.....	22	33	13,5	28,4	1.200	31.000	0,3	1,2
17 septembre...	20	28	12,1	14,3	1.500	29.000	0,2	0,9
20 novembre...	9	13	3,5	6,5	980	21.000	0,1	0,3
23 janvier 1935.	5	12	2,7	3,4	750	23.000	0,1	0,3
2 avril.....	10	27	6,5	20			0,2	0,9
21 juin.....	26	37	17	30			0,2	1,3

(à suivre)

RECHERCHES
SUR LA
GÉNÉTIQUE DES ASCOMYCÈTES
DU GENRE *NEUROSPORA*

par M. Fernand MOREAU et Mlle C. MORUZI

(Suite)

V. — Critique des observations.

Il est évident qu'un travail tel que celui-ci n'a de valeur que par le soin qu'on a mis à écarter des expériences les causes d'erreurs, dont les plus importantes sont, dans le cas actuel, les contaminations des cultures. Aucun expérimenteur n'est, en toute rigueur, à l'abri d'une faute opératoire accidentelle. Nous nous sommes efforcés, en appliquant les techniques que nous avons exposées plus haut, de réaliser des cultures strictement monospores, grâce à l'isolement soigneux des ascospores et à l'éviction de celles au voisinage desquelles aurait crû un mycélium étranger ; nous pensons avoir échappé à des erreurs grossières, mais qui oserait nier la possibilité de la contamination d'une culture, établie en boîte de Petri, malgré la protection du papier qui l'enveloppe, par l'une des conidies minuscules, légères, que les *Neurospora* forment si aisément ?

C'est pour échapper à cette critique que nous avons repris un certain nombre de nos expériences dans des fioles plates, à ouverture étroite obturée au coton, et que nous avons par exemple contrôlé la naissance de souches conidiales dans la descendance des spores formées dans des périthèces issues de la rencontre de deux souches aconidiales et que nous avons vérifié que les souches issues d'une souche homothallique et asporique (souche 47) peuvent être conidiales (Tableau I).

Notons encore que plusieurs des phénomènes de disjonctions végétatives que nous avons relatés et auxquels on pourrait être tenté de trouver une explication dans une contamination accidentelle, ont été observés dans des tubes bouchés au coton, c'est-à-dire dans des conditions de contamination difficile ; ce fut le cas, par exemple, des disjonctions des souches 49 et 56.

Même dans les cas où nos observations ont dû être faites en l'absence de ces garanties particulières, nous pensons avoir réduit dans toute la mesure du possible les causes d'erreurs inévitables.

Toutefois, le lecteur n'étant pas tenu à la même confiance, signalons celles de nos observations qui méritent le crédit le plus étendu : si la production inattendue du caractère homothallique dans une couche conidiale, la venue inopinée d'un mycélium porteur de conidies peuvent s'expliquer aisément par le semis accidentel d'une conidie, par contre la production inattendue du caractère homothallique dans un matériel asporique, la disparition du caractère conidial ne laissent qu'une place restreinte à l'hypothèse d'une contamination accidentelle.

Nous consentons à ce que, dans les considérations théoriques qui vont suivre, le lecteur ne retienne que celles de nos observations qui ont été faites dans ces conditions particulières qui permettent d'accorder à l'absence de contamination un degré très élevé de probabilité ; nos conclusions ne sont pas modifiées par cette restriction.

VI. — Interprétation des résultats.

En présence des faits qui viennent d'être exposés, la pensée qui, dans l'état actuel de nos idées sur l'hérédité, vient la première à l'esprit, en raison de sa simplicité, est que le caractère conidial ou aconidial des *Neurospora*, comme le signe de leurs souches hétérothalliques, sont liés à des facteurs situés dans les noyaux. Si on attache à ces caractères, ou aux facteurs correspondants, des symboles simples, tels que C pour le caractère conidial, c pour le caractère asporique, + et — pour les deux signes opposés des souches unisexuées, on est conduit à affecter aux noyaux des formules telles que + C, + c, — C, — c, qui expriment leur constitution intime et permettent de prévoir leurs possibilités génétiques.

C'est cette manière de voir qui a été adoptée par DODGE et ses

collaborateurs dans leurs recherches sur la génétique des *Neurospora* : elle a conduit DODGE, nous l'avons vu, par des voies théoriques, à affirmer qu'il y a deux fusions de noyaux au cours du développement des *Neurospora* et à apporter une solution de nature expérimentale à une question qui relevait jusqu'ici exclusivement du domaine des cytologistes.

Cette hypothèse, très simple, est au premier abord séduisante, car elle permet d'exprimer un grand nombre des faits que nous venons de relater.

Ainsi, elle fait correspondre aux souches unisexuées que nous avons rencontrées une représentation simple :

On attachera par exemple aux souches conidiales du signe de 17 la formule $+ C$, à celles du signe de 18 la formule $- C$, aux souches asporiques du signe de 17 la formule $+ c$, et enfin le symbole $- c$ à celles du signe de 18.

La même hypothèse rend compte de disjonctions qui paraissent se faire dans l'asque au cours des mitoses réductrices. Ainsi, nous reportant au tableau VII qui résume les résultats de la confrontation des souches 16 et 26, ces dernières, de formules respectives $- c$ et $+ C$, forment des périthèces que DODGE tiendrait pour hybrides, et dont les asques ont un noyau de fusion de symbole $+ - Cc$; les souches conidiales issues d'eux se partagent entre les formules $+ C$ et $- C$, les souches aconidiales, sœurs des premières, ont pour formules $+ c$ et $- c$.

Les périthèces qui résultent de la confrontation des souches 17 et 18 (Tableau VI) de formules respectives $+ c$ et $- c$ forment des asques $+ - cc$ producteurs de spores, dont les symboles sont $+ c$ pour les unes, $- c$ pour les autres.

On s'explique aisément, en adoptant l'hypothèse de DODGE, que les spores ordinaires engendrent bien généralement des souches unisexuées et que la perte du caractère conidial soit générale dans les souches issues de la souche 12, elle-même asporique.

Cette même hypothèse explique encore que des spores qui ont à leur origine deux noyaux puissent être bisexuées :

Ainsi, la souche 47, homothallique et aconidiale, issue de la souche 10, tire son origine d'une spore de taille un peu supérieure à la taille ordinaire, qui peut être tenue pour une spore double, pourvue dès le début de deux noyaux de formules $+ c$ et $- c$. Il en est de

même de la souche 27, également issue d'une spore double, et au caractère asporique et homothallique. C'est par ce même mécanisme que DODGE [24] explique l'homothallisme du *Neurospora tetrasperma*, dont les spores nées binucléées réunissent des noyaux de formule $+ C$ et $- C$; on se souvient que l'isolement des spores de petite taille, donc uninucléées dans cette espèce, a permis à DODGE [40, 41] et à DOWDING [42] d'obtenir des souches hétérothalliques et cette obtention apporte à la doctrine de DODGE un intéressant appui.

A *fortiori* des spores géantes ou extra-géantes telles que la souche 10, réunissant des noyaux affectés les uns du symbole $+$, les autres du symbole $-$, seront-elles l'origine de mycéliums homothalliques.

Enfin la même hypothèse, en attribuant aux souches hétérothalliques issues de la souche 10 les formules $+ C$, $- C$, $+ c$, $- c$, nous conduit à attribuer aux noyaux de fusion de ses asques la formule $+ - Cc$, et à y admettre dans ces asques et dans la souche 10 elle-même la présence du caractère aconidial dont le seul examen de son mycélium ne permettait pas de reconnaître l'existence. Par suite, on s'explique que les somations observées dans la souche 10 fassent apparaître soit des mycéliums $+$ soit des mycéliums $-$, soit des mycéliums conidiaux, soit des mycéliums asporiques. Il y a simplement isolement, dans certaines branches mycéliennes, de noyaux tous de même formule : si des noyaux de formule $- C$ constituent l'appareil nucléaire de 10 AP², ceux de 10 AC² ont pour formule $+ C$; ceux de 10 AT et 10 B ont la formule $+ c$.

De même les mycéliums 12 I, 12 II, 12 III, 12 IV, 12 V sont pourvus de noyaux de formule $+ c$.

En résumé l'hypothèse, très simple, adoptée par DODGE explique les dissociations observées dans la descendance des périthèces réputés hybrides, le caractère homothallique des souches issues de certaines spores doubles, les somations observées dans la descendance de nos souches particulières 10 et 12.

Mais auprès de ces faits qui reçoivent de l'hypothèse de DODGE une explication bien satisfaisante, il en est d'autres qui demeurent inexplicables et vont nous obliger, si nous voulons conserver la notion d'une représentation factorielle simple des caractères, à apporter à la doctrine précédente une importante modification.

Considérons une souche telle que la souche 67, issue d'une spore

géante correspondant à plusieurs spores simples, 4 par exemple ; cette souche est asporique et sans périthèces. On rendra compte de ces caractères en admettant que la spore primitive d'où 67 est issue renfermait des noyaux tous semblables et de formule $+c$ par exemple. De même la souche 14, issue d'une spore géante, elle-même conidiale et bisexuée, renferme des noyaux les uns $+$, les autres $-$, tous porteurs du caractère $C : +C, -C$, seront les formules de ces divers noyaux.

Mais que dira-t-on des souches issues de spores très géantes, telles que les souches 10, 12, 21 ou 68, les deux premières homothaliques, les deux autres unisexuées, la première conidiale, les trois autres aconidiales ? Elles correspondent, par leur taille à toutes les spores ou à presque toutes les spores de l'asque et renferment dès leur origine chacune six ou huit noyaux.

La théorie précédente exigerait que les mycéliums issus de ces spores et pourvus de noyaux génétiquement différents quant au signe soient toujours bisexués ; or certaines de ces souches sont unisexuées. La théorie examinée est, sous la forme première, inapte à en fournir une explication.

Sans l'abandonner totalement, on peut essayer de la modifier de la manière suivante :

On pourrait croire que, dans certaines spores ou certains mycéliums pourvus de noyaux différents génétiquement, la dégénérescence atteint certains noyaux, en respecte d'autres, de sorte que seuls subsistent des noyaux semblables les uns aux autres. Ainsi dans les souches 12, 21 ou 27, aconidiales et unisexuées du signe de 17, pourvues à leur origine de noyaux différents, seuls subsisteraient les noyaux de structure $+c$.

On pourrait aussi admettre que le caractère d'une branche mycélienne est lié à la prépondérance numérique de certains noyaux ; par exemple, dans la souche 47, les noyaux pourvus du caractère c se seraient multipliés beaucoup, sans que disparaissent totalement les noyaux pourvus du facteur C , de sorte que ce facteur puisse réapparaître dans les souches issues de celle-ci, tout en demeurant effacé dans la souche 47 elle-même.

Nous arriverions ainsi à la notion d'une concurrence entre les noyaux d'un même mycélium, conduisant à la suprématie de certains d'entre eux, soit même à l'éviction des autres, et cette doc-

trine nouvelle aurait le mérite d'expliquer divers faits : les différences entre les souches issues de spores géantes, la réapparition de souches conidiales dans la descendance de ces souches privées de conidies, les somations qu'elles présentent et même le retour au caractère primitif observé dans quelques-unes des « variantes » auxquelles les somations donnent naissance.

Mais d'autres faits ne permettent pas de retenir, dans tous les cas, cette notion, ou du moins elle n'est pas suffisante pour expliquer des faits tels que les suivants :

Des variations ont été observées dans la descendance des souches issues de spores normales. Pour expliquer les variations observées, le passage de l'état conidial à l'état aconidial ou inversement, il n'est plus possible de placer dans la spore initiale des noyaux de potentialités différentes puisque les spores initiales, de taille normale, ne renfermaient sans doute chacune, au début, qu'un unique noyau. C'est dans ce dernier qu'il faut, si on veut conserver le symbolisme précédent et retenir l'hypothèse d'une représentation factorielle simple des caractères, placer les deux symboles qui témoignent des potentialités opposées de la spore ; $+ - Cc$ sera la formule de celle-ci ; les deux facteurs $+$ et $-$, les deux facteurs Cc , à la fois sont contenus dans le premier de ses noyaux. Nous arrivons ainsi à la notion de la bipotentialité sexuelle des noyaux, et de leur bipotentialité au point de vue du caractère conidial et asporique.

Des deux facteurs antagonistes C et c , $+$ et $-$, l'un l'emporte souvent, et la souche qui les renferme offre l'apparence conidiale ou aconidiale, l'apparence d'un mycélium $+$ ou d'un mycélium $-$; mais les rapports de prépondérance peuvent changer et le phénotype de la souche peut se modifier.

Illustrons cette conception de quelques exemples.

La souche 130, issue d'une spore plus petite que les spores ordinaires, est conidiale et homothallique ; elle pourra recevoir le symbole $Cc+ -$ dans lequel nous aurons indiqué par l'emploi d'un C en caractère gras que le facteur C est prépondérant.

La souche 138, la souche 54, auront par contre pour symbole $Cc+-$, formule qui affirme, par l'emploi de la lettre c en caractère gras, la prépondérance du facteur c et rend compte du phénotype homothallique et aconidial de ces souches.

Les nombreuses souches hétérothalliques et asporiques issues

de la souche 12, 17 ou 18 par exemple, reçoivent dans cette notation les symboles $\times - C c$ ou $+ - C c$; la souche 30, de même origine que les précédentes, mais conidiale et hétérothallique du signe de 17, reçoit le symbole $\times - C c$. On notera dans ces dernières formules l'emploi des signes \times et $-$ en caractères gras, sous la forme des signes \times et $-$ en caractères gras et qui expriment la prépondérance des facteurs correspondants.

Les souches conidiales du signe de 17 ont pour formule $\times - C c$, celles du signe de 18, $+ - C c$; les souches asporiques du signe de 17 sont représentées par $\times - C c$, celles du signe de 18, par $+ - C c$.

On s'explique aussi que, dans les cultures mixtes des souches aconidiales, on voit apparaître des souches conidiales : du côté 16, dans les cultures mixtes de 16 et x, les spores engendrent des souches 184 à 186, hétérothalliques et asporiques, que représenteront selon leur « sexe » les symboles $\times - C c$ et $+ - C c$, des souches 179 à 183, hétérothalliques et conidiales, qui peuvent recevoir, selon leur comportement sexuel vis-à-vis de 17 et 18, les symboles $\times - C c$, $+ - C c$.

On s'explique encore que dans les fioles plates où sont mises en mélange les spores empruntées à des périthèces issus de souches hétérothalliques et aconidiales, il y ait parfois formation de conidies. On assiste alors à la prépondérance prise par le facteur C par rapport au facteur c jusque là prédominant, à l'intérieur d'un noyau qui les renferme tous les deux.

En résumé, la notation qui consiste à placer dans chaque noyau un facteur $+$ ou $-$ pour déterminer le sexe, C ou c pour déterminer le caractère conidial ou aconidial, peut rendre compte de toute une série des faits que nous avons montrés précédemment : la variété des souches issues de certains périthèces et que traduit la diversité des symboles $+C$, $-C$, $+c$, $-c$; la production bien générale de souches unisexuées stables, par les spores ordinaires; le caractère homothallique des souches issues de certaines spores doubles; les somations observées dans la descendance des souches issues des spores de grande taille.

Cette théorie est insuffisante pour rendre compte des caractères des souches issues des spores équivalant à un asque entier ou à

presque toutes les spores d'un asque ; elle doit subir une légère modification, on fera intervenir une concurrence entre les noyaux d'un même mycélium, une lutte, une action antagoniste, une compétition ; on rendra compte ainsi d'un certain nombre de faits : la diversité des souches issues de spores géantes, la réapparition de mycéliums conidiaux au cours de la végétation des souches issues de spores de taille élevée, le retour au caractère primitif des « variantes ».

Cette notion nouvelle est à son tour insuffisante pour rendre compte des variations observées dans la descendance des souches issues de spores de taille normale et nous avons été conduits à admettre la bipotentialité sexuelle et la bipotentialité au point de vue du caractère conidial ou aconidial des noyaux des *Neurospora*. Si on tient à conserver, dans ses traits essentiels, le symbolisme simple de DODGE, il faut admettre que chaque noyau renferme les deux facteurs + et —, ainsi que les deux facteurs C et c, avec une prépondérance de l'un des facteurs antagonistes. Bien que dans l'ignorance totale des règles qui fixent la prépondérance des facteurs, nous pouvons soupçonner une concurrence, une compétition intranucléaire, des gènes.

Peut-être n'y a-t-il pas un grand intérêt à adopter la notation précédente, elle revient à exprimer qu'un mycélium de *Neurospora* n'est que relativement stable et qu'il est capable de variations dans son comportement sexuel ou dans la formation de ses conidies. Indiquons toutefois qu'elle est en accord avec l'ensemble de nos idées actuelles sur l'hérédité et sur la bipotentialité sexuelle.

Faisons remarquer enfin et surtout que les phénomènes qui déterminent le « sexe » ou le caractère conidial ou aconidial sont bien plus complexes qu'il apparaît à première vue et qu'on ne saurait plus invoquer, comme l'a fait DODGE, contre nos observations cytologiques ou nos recherches expérimentales sur les *Neurospora*, la théorie simpliste dont nous avons cherché à mettre en évidence l'imperfection.

(à suivre)

RÉACTIONS DES FRUITS AUX BLESSURES EXPÉRIMENTALES

par M. Roger ULRICH

(Suite)

B. — Différenciation des cellules ligno-subéreuses.

Jusqu'au sixième jour on les distingue très mal; cependant leurs membranes subissent déjà des remaniements car elles retiennent fortement l'hématoxyline par places. Au dixième jour, la mem-

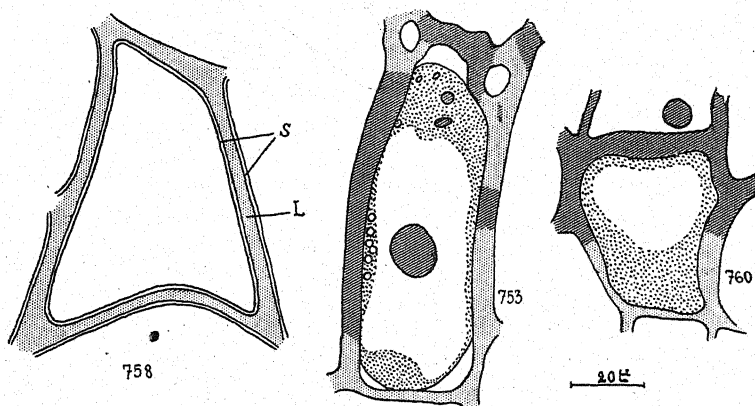


Fig. 28. — Cellules ligno-subérifiées (*P. arietina*).

758 : coloration par le soudan; L : partie lignifiée de la membrane; s : lamelles subéreuses.

753 (BOUIN) en grisé sombre, parties colorées par l'hématoxyline ferrique.

760 (BOUIN) en grisé sombre, régions colorées par la safranine.

brane se colore nettement par la phloroglucine chlorhydrique, le vert d'iode, le soudan, la safranine, le sulfate d'aniline sulfurique. A ce stade la cellule est morte, vide sauf quelques débris étroitement fixés à la paroi. La lignification est souvent limitée à une partie

seulement de la surface de l'enveloppe : par exemple uniquement à l'hémisphère externe (fig. 28). La subérine forme une très fine lamelle interne vivement colorée en rouge par le soudan tandis que le reste de la paroi devient jaunâtre (lignine) (fig. 28). Lorsque l'évolution ligno-subéreuse est terminée, le noyau est pycnotique ou complètement disparu.

Un fait nouveau se rencontre chez les Pivoines ; la lame ligno-

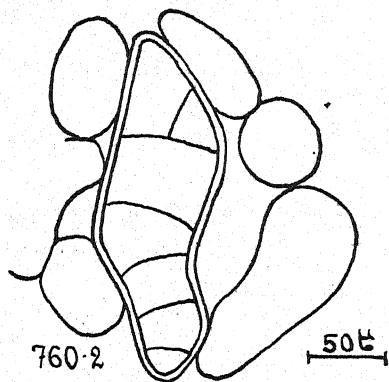


Fig. 29. — Cellule-mère s'immisçant dans les lacunes (*P. arietina*). Les contours des cellules voisines sont représentés par un trait simple.

subéreuse n'est pas parallèle à la lésion ; elle en est très proche vers l'épicarpe et s'enfonce vers l'axe du fruit dans le parenchyme lacuneux (fig. 32). La blessure fait beaucoup plus de ravages dans cette partie interne du mésocarpe que dans la région compacte. Parfois il est difficile de suivre la lame ligno-subéreuse dans la région lacuneuse car elle y est peu différenciée (755).

C. Divisions cellulaires. Phellogène. Phelloderme.

Les premières cloisons apparaissent généralement dans les cellules voisines des vaisseaux ligneux et, par la suite, c'est là que les divisions se poursuivent le plus activement. Les noyaux sont gros, les chromosomes aussi et on peut observer facilement les divers stades des caryokinèses (754).

Les cloisons nouvelles s'orientent chez les Pivoines d'après la

lame ligno-subéreuse à laquelle elles sont généralement parallèles, et non par rapport à la surface de la lésion. Dans le parenchyme lacuneux, les divisions sont souvent très désordonnées. Elles sont

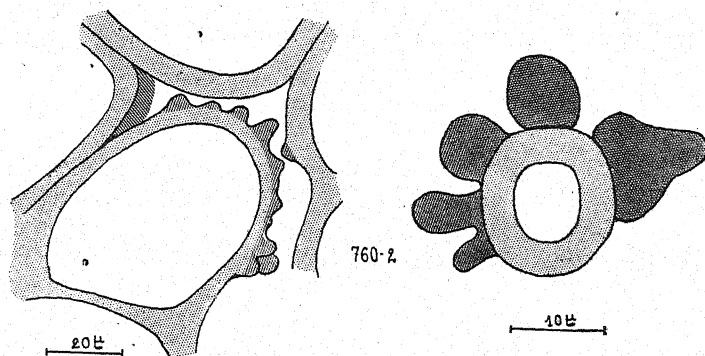


Fig. 30. — Verrues pectiques du parenchyme lacuneux (*P. arietina*). BOVIN ; hématoxyline ferrique.

accompagnées d'une croissance des cellules-mères qui assure le bouchage des lacunes par les cellules devenues contournées (fig. 29). Ainsi prend naissance, sous la partie la plus profonde de la lame ligno-subéreuse, un tissu compact dérivé de l'ancien parenchyme

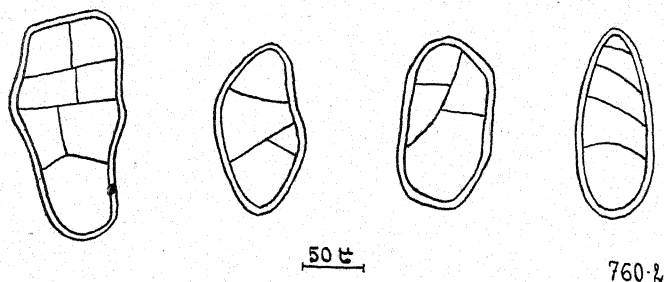


Fig. 31. — Cellules-mères divisées dans le parenchyme compact (*P. arietina*). La surface de la blessure serait située vers le haut de la figure.

lacuneux. Le bouchage est rendu plus hermétique au cours de l'évolution du fruit car il apparaît sur les membranes des verrues pectiques qui, se collant les unes aux autres, obstruent les derniers méats (fig. 30).

Dans la région externe du mésocarpe, normalement compacte,

les cloisonnements se répètent dans les cellules-mères qui s'allongent sous la lame ligno-subéreuse et perpendiculairement à elle. Parfois, une cloison radiale facilite le morcellement (fig. 31). C'est dans l'avant-dernier quart externe à peu près que se localisent les divisions (assise génératrice), et la cellule la plus externe de la pile meurt, fixant plus énergiquement l'hématoxyline dans sa paroi : c'est le premier élément du liège.

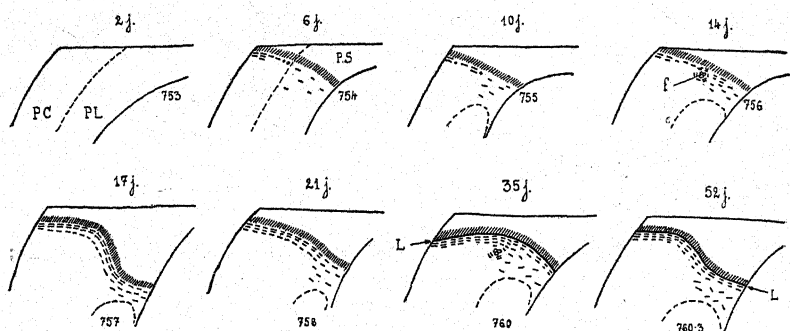


Fig. 32. — Tableau schématique des étapes de la cicatrisation (*P. arietina*; lésions latérales). En hachures, la lame ligno-subéreuse. Le trait interrompu marque la limite du parenchyme compact (PC) et du parenchyme lacuneux (PL). Les tirets représentent les cloisons nouvelles. Les points correspondent à des noyaux en prophase. La surface de la blessure est toujours indiquée par la ligne horizontale située en haut de chaque dessin. L: liège; f: faisceau; PS: parenchyme sacrifié.

Le liège ne prend un développement notable que très tardivement; il ne comporte jamais que quelques couches de cellules.

La figure suivante (fig. 32) représente schématiquement l'évolution de la région blessée dans le cas de larges lésions latérales effectuées sur des fruits de *Paeonia arietina*.

3. Cicatrisation des sections transversales chez *Paeonia arietina* Anders.

L'ablation de la moitié du fruit par une section transversale effectuée au rasoir laisse une blessure qui cicatrise comme une lésion latérale. On retrouve la formation d'une lame ligno-subéreuse s'enfonçant au niveau du parenchyme lacuneux, des divisions cellulaires déjà nombreuses auprès des vaisseaux tandis qu'ailleurs les

noyaux en sont seulement au gonflement prophasique (772), la formation dans le parenchyme lacuneux d'une zone compacte par suite de l'accroissement et des divisions de ses cellules.

Quelques détails cytologiques sont à retenir : les diverses phases

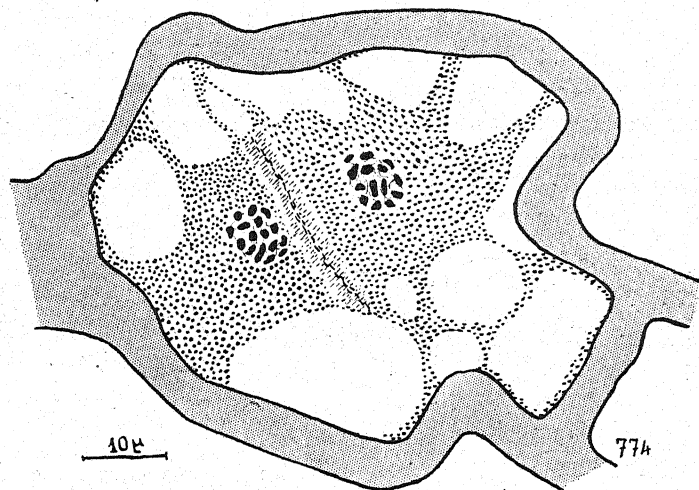


Fig. 33. — Fin de mitose au centre d'une cellule (*P. arietina*) BOVIN ; hématoxyline ferrique.

de caryokinèse sont observables et la division nucléaire a lieu généralement au milieu de la cellule (fig. 33) ; les cellules du parenchyme lacuneux s'aplatissent progressivement et parfois leurs noyaux sont vacuolisés ou renferment des nucléoles déformés (fig.34).

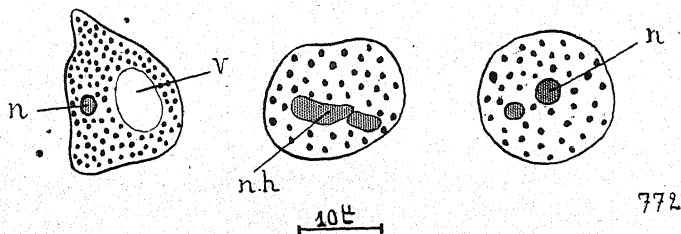


Fig. 34. — Noyaux dégénérés (*P. arietina*). BOVIN ; Hématoxyline.
n : nucléoles ; n.h : nucléole hypertrophié. A droite : noyau normal.

4. Cicatrisation des lésions latérales

chez *P. corallina* Retz.

Les phénomènes observés ici étant très analogues à ceux que révèle l'espèce précédente, je noterai seulement, dans ce paragraphe, les faits nouveaux ou apportant quelques précisions aux chapitres précédents. Je signale également que GARMS ([68], p. 478) a étudié la cicatrisation des fruits de *P. peregrina* et *corallina*. Les résultats ci-dessous confirment un certain nombre de ses observations que nous retrouverons plus loin.

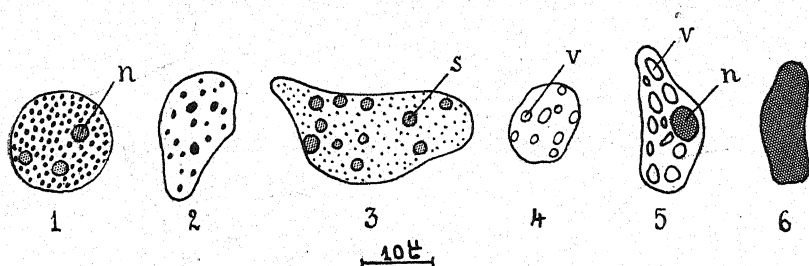


Fig. 35. — Noyaux du parenchyme sacrifié (*P. corallina*.) BOUIN: n : nucléoles.

- 1 : témoin normal: chromocentres fixant le glychémalun, nucléoles safraninophiles.
- 2 : chromocentres noirs (hématoxyline) sur fond rouge (éosine).
- 3 : sphères rouges (safranin) : s.
- 4-5 : noyaux uniformément rouges (safranin) sauf au niveau des vacuoles v.
- 6 : noyau pycnotique coloré par la safranin.

A. — Parenchyme sacrifié

Au contact des cellules déjà nécrosées, j'ai observé dans quelques fruits, 24 heures après la blessure, des déplacements de noyaux et de plastes (1042-1). Les formes de dégénérescence des noyaux sont variées : vacuolisation, pycnose (fig. 35). Sur les préparations fixées au REGAUD le contenu vacuolaire des cellules forme une sorte de laque brune tandis que, dans les tissus normaux, les phénols ont précipité en fines granulations. Le réactif de BRÆMER, le chlorure ferrique et la caféine précipitent des tanoïdes dans le parenchyme normal ; ceux-ci sont rares ou absents dans la zone sacrifiée (1042-2).

Les membranes sont parfois brunies ; elles ont probablement adsorbé une partie au moins des phénols. Les plastes sont déformés dans les cellules mortes : hypertrophiés, contractés, ou vacuolisés.

Dans ce parenchyme nécrosé, les vaisseaux ligneux se comportent de façon variée : leur spirale se déroule souvent ; parfois ils résistent à la contraction des tissus aqueux et font saillie à la surface. Fréquemment un bouchon safraninophile ferme le vaisseau que la blessure avait rendu béant (fig. 36).

B. — Cellules ligno-subéreuses

Elles sont toujours reconnaissables aux mêmes caractères : non écrasées, presque complètement vides, mortes, à paroi brune ligno-subérifiée (Réactions positives avec vert d'iode, phloro-

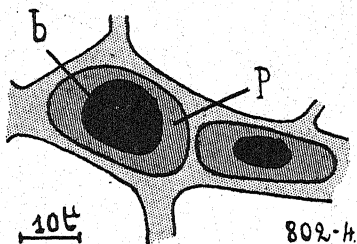


Fig. 36. — Vaisseaux bouchés au voisinage de la blessure (*P. corallina*). *p* : paroi lignifiée du vaisseau ; *b* : bouchon vivement coloré par la safranine.

glucine, sulfate d'aniline, safranine, potasse, soudan). Comme précédemment ces cellules possèdent à la fin de leur évolution une très fine lamelle interne plissée représentant la seule partie subérifiée. La région ancienne et moyenne de la membrane se modifie chimiquement par plages discontinues (fixation irrégulière de l'hématoxyline). La lame ligno-subéreuse contourne parfois des faisceaux.

C. — Divisions cellulaires. Phellogène. Phelloderme.

Rares encore après 7 jours de cicatrisation (802-3), les divisions sont localisées à ce moment au voisinage de l'épicarpe et auprès des vaisseaux ligneux. Plus tard elles se généralisent, engendrant une zone de méristème puis une étroite assise génératrice. Celle-ci, toujours très voisine de la lame ligno-subéreuse, n'est pas parallèle à la

blessure mais descend plus profondément dans le parenchyme lacuneux que dans le parenchyme compact du mésocarpe. Les caryokinèses sont bien visibles mais ne présentent rien de particulier (802) ; les prophases surtout sont très nombreuses sans doute à cause de la longueur de cette phase de la division nucléaire. Les membranes sont incolores et pecto-cellulosiques. Les cellules les plus proches du

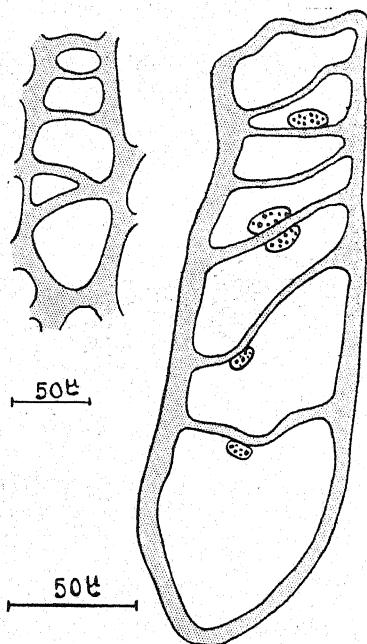


Fig. 37. — Cellules-mères (*P. corallina* : 802-4 et 802-6). Le phellogène est reconnaissable à la minceur des parois cellulaires. La surface de la blessure serait située en haut de la figure.

phellogène ont des chloroplastes très petits et des parois tangentielles très minces. Celles-ci sont plus épaisses dans les cellules plus éloignées de la blessure (fig. 37).

D. — Le Liège

La première cellule de liège est la plus externe de chaque pile de cellules-filles. La subérification est nette au bout de 20 jours (802-6) mais le liège reste toujours très mince comparativement au phelloderme.

Les étapes de la cicatrisation sont les mêmes que chez *Paeonia arietina*. La fig. 32 peut s'appliquer aux deux espèces.

5. Cicatrisation des sections transversales chez *P. corallina* Retz.

Des observations ont été faites sur des fruits comparables tranchés à divers niveaux : aucune différence n'a pu être constatée dans les tissus cicatriciels au bout de 29 jours (800).

Sur un fruit (1046-1), les cellules en cours de ligno-subérification renfermaient, accolées à leurs membranes, des gouttes osmiphiles dans les débris du contenu cellulaire (fixation de MEVES suivie de post-chromisation). Dans quelques cellules de la même région, les chloroplastes, au lieu d'être disposés sur toute la surface de la paroi, étaient agglomérés autour du noyau.

6. Cicatrisation d'une strie peu profonde parallèle à la ligne de déhiscence (*P. corallina*).

Au bout de 12 jours (843-2) on peut observer sous la blessure, comme dans le cas des lésions de grande surface, quelques cellules sacrifiées à noyau pycnotique, des cellules ligno-subérifiées et, dessous, des cellules à très gros noyau prêtes à se diviser ; quelques cellules sont d'ailleurs déjà cloisonnées. Des vaisseaux affleurant la plaie sont bouchés par un tampon vivement coloré par la safranine ; d'autres sont bédants. Des trachéides (ponctués, lignifiés) sont bouchés comme des vaisseaux. Certains vaisseaux spiralés semblent présenter au voisinage de la blessure une hypertrophie de leurs spires (843-2).

CHAPITRE VI

RECHERCHES SUR LE LIERRE

(Hedera Helix L.)

1. Le fruit normal.

A partir d'une inflorescence naissent de très nombreux fruits, mais un grand nombre tombent avant la maturité; c'est sur ceux de l'ombelle terminale, plus résistants qu'ont porté les expériences (v. p. 15).

La drupe du lierre a été étudiée notamment par GARCIN ([67], p. 321) dont nous compléterons les observations. Cinq régions bien distinctes sont reconnaissables dans le fruit :

1° *L'épicarpe* pourvu sur le fruit jeune de poils blanchâtres étoilés, de stomates et d'une cuticule très plissée; plus tard cette dernière a une surface moins irrégulière (1). Les cellules de l'épicarpe renferment un pigment anthocyannique et des granulations incolores (leucoplastes ?). Le fruit mûr ne porte que quelques poils; on retrouve à sa surface les traces blanches de ceux qui sont tombés.

2° *Le parenchyme sous-épidermique* compact, collenchymateux, formé d'environ cinq couches de cellules; certaines renferment un pigment anthocyannique très abondant à la maturité. Les chloroplastes sont nombreux dans cette région du fruit et le chlorure ferrique colore en noirâtre les contenus cellulaires. Dans le fruit mûr, on observe des globules réfringents soudanophiles. Sur un fruit récolté longtemps après la maturité, j'ai observé des sortes d'inclusions massives dans les cellules, rappelant celles qu'ont

(1) MARTENS a étudié avec précision cet étalement de la cuticule sur des pétales au cours de leur accroissement [145].

décrites dans divers fruits TICHOMIROW [224], LLOYD [131], MÖLLER [158], NIETHAMMER [174, 175], etc.

3° Le *mésocarpe lacuneux* est beaucoup plus épais que le tissu précédent ; il dérive d'un tissu compact de l'ovaire dont les cellules se sont écartées (GARCIN, [67], p. 323). Il est formé de files de cellules un peu allongées s'anastomosant et ménageant entre elles de grandes lacunes. Les parois cellulaires portent extérieurement, à l'approche de la maturité au moins, des verrues pectiques peu colorables, par l'hématoxyline. A la maturité, les cellules renferment en abondance des corpuscules lipidiques.

4° et 5° Le *mésocarpe profond* et l'*endocarpe* sont constitués par deux couches de fibres formant le noyau (GARCIN [67], p. 203 et 323). Ces fibres sont orientées dans deux directions différentes et obliques par rapport à l'axe du fruit. Elles forment une sorte de lamelle cartilagineuse cutinisée facilement séparable du reste du péricarpe sur le fruit jeune.

L'amidon est parfois abondant dans les fruits très jeunes (ex. : 4 mm. de diamètre); il manque dans les fruits âgés; il en est de même pour l'oxalate de calcium qui se présente sous forme de mâcles (oursins), groupées en très grand nombre autour des cavités ovariennes des jeunes fruits.

Dans le *mésocarpe* se trouvent, accolés aux faisceaux, des canaux sécréteurs limités par plusieurs couches de cellules aplaties (1). Le contenu de ces canaux apparaît sur les coupes examinées dans l'eau sous forme de gouttes très réfringentes ; celles-ci sont entraînées par un traitement à l'alcool ; il ne reste plus alors qu'une sorte de coagulum incolore qui subsiste également sur le matériel inclus en paraffine et traité par les méthodes cytologiques usuelles. Ces observations sont compatibles avec les travaux de PELLETIER [183], WIGAND [252], TSCHIRCH [232] qui admettent que la sécrétion est une gomme-résine. BÉCHERAZ ([12], p. 33) note la présence, dans les canaux sécréteurs des Araliacées, d'une résine vert-jaune soluble dans l'alcool. TSCHIRCH [232] après avoir indiqué

(1) L'appareil sécréteur du Lierre a été étudié sur les organes végétatifs par de nombreux auteurs qui se sont attachés surtout à montrer son origine schizogène (TSCHIRCH [232], p. 1101). MOENIKES [158 bis] a vu la résine apparaître d'abord en fines gouttelettes dans le cytoplasme.

l'analogie de la sécrétion des Araliacées avec celle des Ombellifères étudie cette dernière et y montre la présence de Résinotannols (alcools résiniques présentant certaines réactions des tanoïdes).

Le fruit de Lierre est riche en tanoïdes (Hédératannin). WEHMER [247] y signale en outre comme constituants chimiques de l'hédérine (glucoside), des graisses, du cholestérol, des sucres, de la pectine.

Les membranes se colorent faiblement en gris bleuâtre par le réactif de ZIEGENSPECK (présence de colloïde).

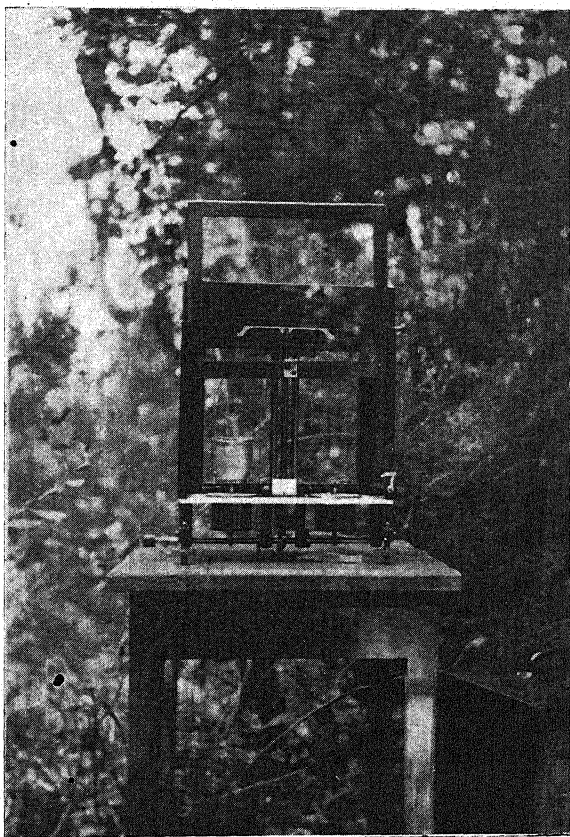
Signalons enfin que les noyaux sont du type à prochromosomes et, corrélativement (EICHORN [58]), ont des chromosomes très courts.

(A suivre.)

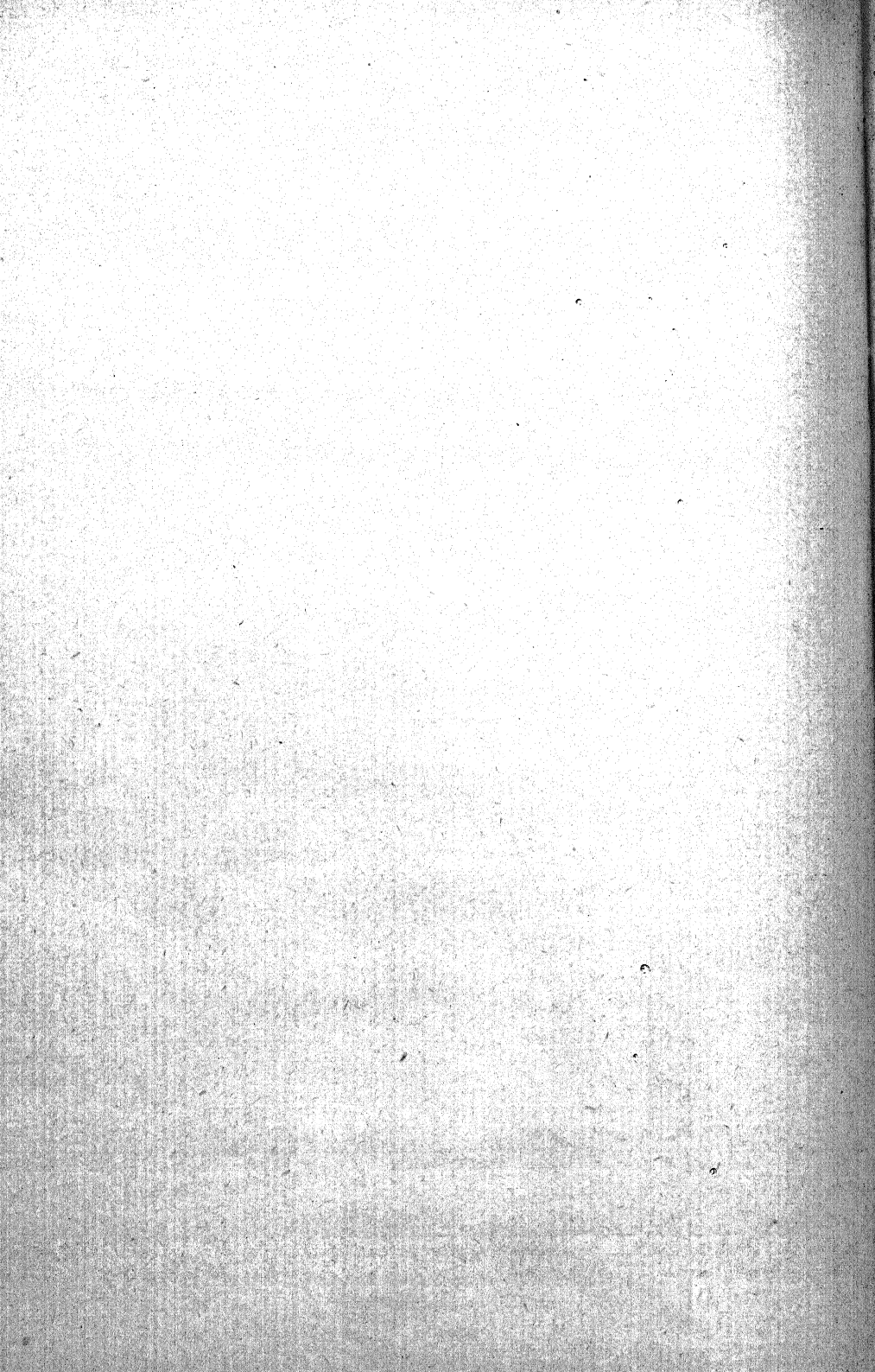
NÉCROLOGIE

C'est avec une douloureuse stupéfaction que nous avons appris la mort subite, le 5 août dernier, de M. SAUVAGEAU, Correspondant de l'Institut, Professeur honoraire à la Faculté des Sciences de Bordeaux.

Ses recherches sur les Algues marines : en particulier sur le développement des Laminaires dont il découvrit la sexualité, ainsi que sur l'alternance de génération qu'il mit en évidence chez un grand nombre de ces Végétaux, en faisaient depuis longtemps un des maîtres incontestés de l'Algologie.



Balance portative BUNGE-STOCKER.



RECHERCHES COMPARATIVES
SUR LA
TRANSPIRATION DE QUELQUES ESPÈCES
LIGNEUSES ET HERBACÉES
DU BAS-LANGUEDOC

par M. J. GIROUX et Mlle SOROCEANU

(Suite et fin)

ERICA MULTIFLORA

Erica multiflora est une espèce euméditerranéenne, xérophile et héliophile, haute d'un mètre à un mètre cinquante; ses feuilles ont, là encore, la forme « éricoïde » parfaite.

Comme il était facile de le prévoir, les valeurs des facteurs microclimatiques étant plus élevées, *Erica multiflora* transpire davantage qu'*Arbutus unedo* et *Erica arborea*. Ceci ressort non seulement des chiffres maxima mais surtout des moyennes journalières de transpiration (tableau 6).

En effet, l'allure des courbes journalières diffère de ce que nous avons obtenu avec les espèces du sous-bois. A Fontfroide, en plein soleil, dès le matin, la transpiration est forte et reste élevée presque toute la journée; en revanche le maximum de midi est en général peu accusé (Graph. 6 et 7).

Mais, si d'une façon générale la transpiration d'*Erica multiflora* est supérieure à celle des espèces étudiées à Mezouls, elle est loin d'avoir augmenté dans le même rapport que les valeurs des facteurs microclimatiques.

Analysant le microclimat (tableau 7) nous constatons en effet

que la température est en général plus élevée de 5 à 7° que celle de Mezouls. De même le déficit hygrométrique est toujours supérieur. Mais surtout, c'est pour le facteur photique que la différence est accusée, puisque la lumière est en moyenne vingt fois plus forte à Fontfroide qu'à Mezouls.

Et nous retrouvons, reflétée par l'intensité d'évaporation, la différence de ces deux microclimats. L'évaporation est deux à trois fois plus forte à Fontfroide qu'à Mezouls. Mais la transpiration, qui n'est pas un phénomène purement physique comme l'évaporation, est loin d'avoir augmenté dans de telles proportions.

Il y a de plus une réaction spécifique d'*Erica multiflora*, dont la structure et la physiologie nous révèlent une adaptation particulièrement poussée aux exigences du climat de nos garigues languedociennes.

Le 1^{er} avril, en effet, *Pinus halepensis* présentait, à Fontfroide, une moyenne journalière de transpiration de 8,7 mg. ; celle d'*Erica multiflora* était, le même jour, de 5,4 mg. Les conditions microclimatiques, à Fontfroide, étaient les mêmes pour ces deux espèces, mais *Pinus halepensis* contenait 58% et *Erica multiflora* 40% d'eau seulement.

Nous retrouvons donc, pour *Erica multiflora*, soulignée par la transpiration, une adaptation au climat méditerranéen que nous avait révélé, en 1934, l'étude anatomique et l'étude des variations de la pression osmotique chez cette espèce.

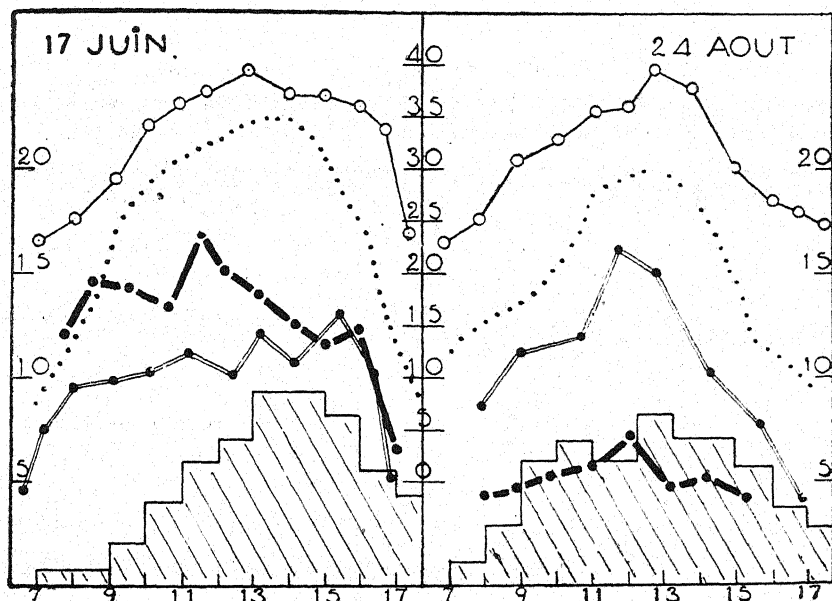
L'activité physiologique qui se ralentit à partir de novembre, repart dès le mois de mars. Au début d'avril, l'intensité de transpiration est déjà forte; elle atteindra son maximum en juin, au moment où le sol est encore riche en eau et les conditions microclimatiques déjà suffisamment élevées.

Par contre, un peu plus tard (juillet et août), malgré les conditions microclimatiques élevées, la transpiration diminue et il en résulte une légère augmentation de la quantité d'eau du protoplasma (45%). Il paraît plausible d'attribuer cette diminution de la transpiration à l'extrême sécheresse du sol à ce moment (6%).

Nous avons donc pu mettre en évidence, pour *Erica multiflora*, le rôle des facteurs microclimatiques et celui de l'humidité du sol dans la transpiration de ce végétal.

Veyrassy

A Veyrassy (4 km. de Montpellier), nous avons expérimenté dans un groupement de buissons à *Coriaria myrtifolia*, situé sur une pente marneuse, d'ailleurs très peu inclinée (5° environ) ; le sol compact est, comme à Fontfroide, assez humide en hiver (30 à 35%



Graphique n° 8. — Courbes journalières de transpiration de *Coriaria myrtifolia* et *Cornus sanguinea* à Veyrassy.

- | | | |
|-------|----------------------------|---|
| ●—● | <i>Cornus sanguinea</i> | } Transpiration en mmgr. par gramme de substance fraîche et par minute (Echelles externes). |
| ●—● | <i>Coriaria myrtifolia</i> | |
| ○—○ | Température | } Echelles internes. |
| | Déficit hygrométrique | |

Évaporation, bloc, hachuré, sans échelle.

à 30 cm. de profondeur) et sec en été (10% en volume à 30 cm. de profondeur).

Ont été étudiées, à cet endroit, durant les mois de juin et août, deux espèces ligneuses : *Coriaria myrtifolia* et *Cornus sanguinea*.

Ces deux espèces, mésophiles, à feuilles larges et caduques, sont dans ce groupement exposées en plein soleil ; les pieds expérimentés avaient de 1 m. à 1 m. 30 de hauteur.

En juin, l'allure de la courbe journalière de transpiration est fort différente pour ces deux végétaux (Graph. 8).

Celle de *Coriaria* est très uniforme et présente encore à 16 heures une valeur aussi élevée qu'à 13 heures. La moyenne journalière 11 mg. 5 est très proche du maximum 12 mg. 6. De plus, dans des conditions microclimatiques comparables, cette espèce transpire encore moins qu'*Erica multiflora*.

Cornus sanguinea au contraire, se rapproche davantage d'*Erica multiflora* aussi bien par l'allure de la courbe que par l'intensité de sa transpiration ; cette espèce atteint en particulier son maximum de transpiration vers 11 heures (16 mg. 1). Au cours de l'après-midi, les stomates se ferment progressivement et la transpiration diminue.

En juin, la transpiration de *Cornus sanguinea* est donc supérieure (11 mg. 5 comme moyenne) à celle de *Coriaria myrtifolia* (9 mg. 17). C'est l'inverse qui se produit en août. *Coriaria* continue à transpirer et à ce moment transpire même davantage (9 mg. 9 en moyenne) que *Erica multiflora* (7 mg. 2).

Cornus sanguinea par contre, qui a présenté en juin une activité physiologique supérieure à celle de *Coriaria*, achève son cycle de

TABLEAU N° 8
(Campagne « Les Pommettes »)

ESPÈCES ET DATES	TRANSPIRATION EN MG. PAR MINUTE ET PAR GRAMME DE SUBSTANCE :				CONTENU EN EAU DU VÉGÉTAL %
	FRAICHE			SÈCHE	
	MATIN MINIM.	MIDI MAXIM.	MOYENNE JOURNAL.	MOYENNE JOURNAL.	
<i>Erica multiflora</i>					
20 août	5,2	6,3	4,9	8,3	41
22 novembre	1,4	2,9	2	3,4	42
<i>Arbutus unedo</i>					
20 août	0,7	14,8	7,2	16,9	58
22 novembre	2,6	5,8	3,2	8	60
<i>Arbutus andrachne</i>					
20 août	1	8,9	3,1	7,2	57
22 novembre	3,6	7,3	5,6	13,3	58

TABLEAU N° 9

Conditions microclimatiques dans le parc de la Campagne « Les Pommettes ».

· *ARBUTUS UNEDO ET A. ANDRACHNE*

DATES	TEMPÉRATURE DEGRÉS		DÉFICIT GRAMMES		LUMIÈRE LUX		ÉVAPORATION cm ³	
	Matin	Maxim	Matin	Maxim	Matin	Maxim	Matin	Maxim
20 août.....	18	30	2	25,2	2.000	26.000	0,1	0,9
22 novembre...	10	13	5	6,8	1.800	21.000	0,1	0,4
<i>ERICA MULTIFLORA</i>								
20 août.....	20	32	5	23,0	2.200	23.000	0,2	1,0
22 novembre...	13	20	5	11,5	1.700	20.000	0,1	0,3

végétation, plus tôt et dès le mois d'août les feuilles sont déjà en partie desséchées; cette espèce appartient à un climat tempéré (eurosibérien).

Coriaria myrtifolia, espèce méditerranéenne, ne terminera son cycle que fin septembre, début octobre.

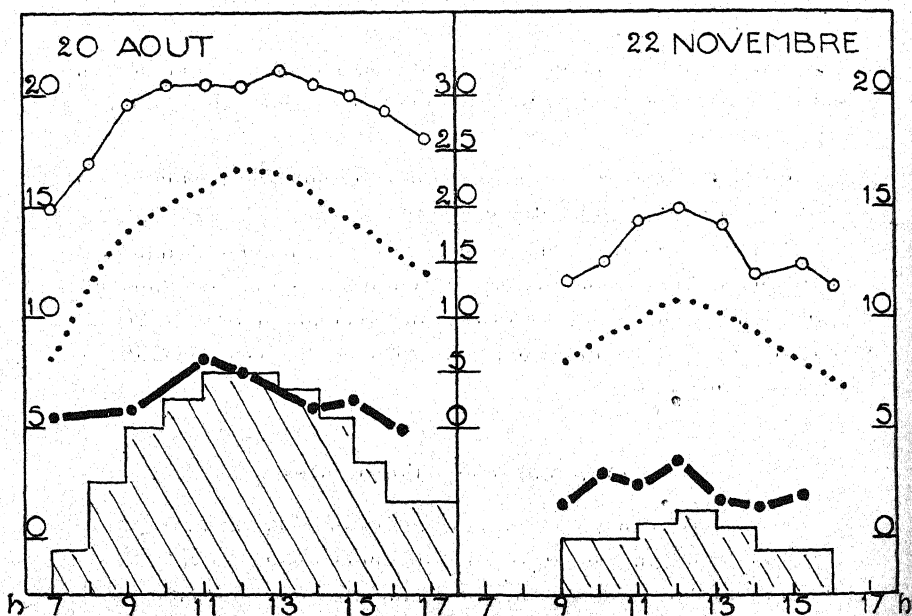
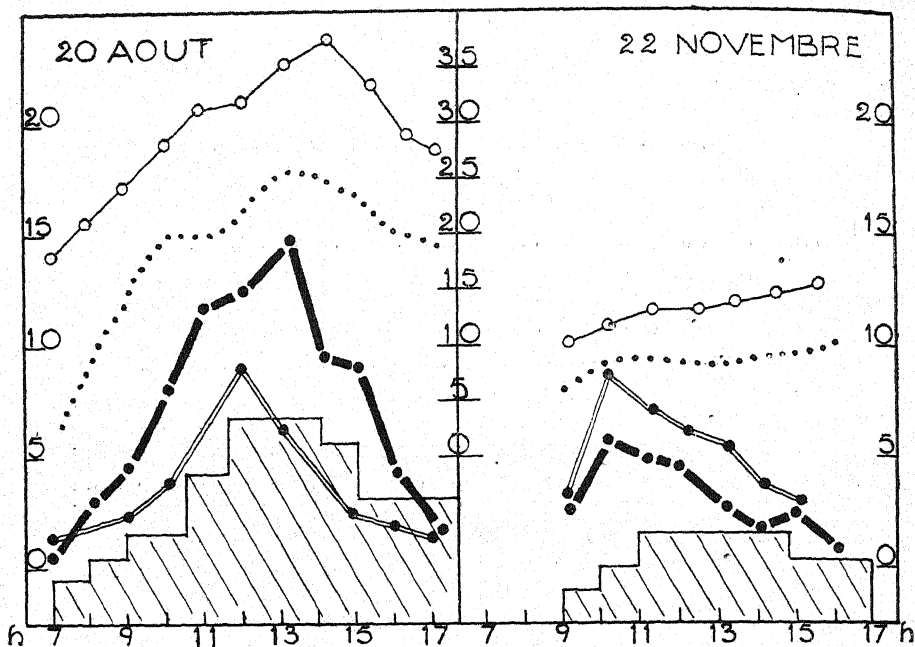
Nous voyons donc que, pour les arbres à feuilles caduques, il faut tenir compte, dans l'interprétation d'une mesure de transpiration, non seulement de la saison, des facteurs microclimatiques, mais de l'âge des feuilles expérimentées et du cycle végétatif de l'espèce considérée.

Campagne « Les Pommettes »

Dans cette campagne, où nous avons pu expérimenter grâce à l'extrême obligeance de M. BAZILE, que nous tenons à remercier ici, on trouve, plantés il y a environ cinquante ans et presque côte à côte, des pieds d'*Arbutus unedo*, d'*Erica multiflora* et d'*Arbutus andrachne*.

Tous ces végétaux sont de belle venue et ne paraissent nullement souffrir.

Si l'on compare ces trois espèces aux pieds situés soit à Mezouls,



Graphique n° 9. — Courbes journalières de transpiration d'*Arbutus unedo*, d'*Arbutus andrachne* et d'*Erica multiflora* aux Pommettes.

En haut :

- *Arbutus unedo*
- *Arbutus andrachne*

En bas :

- *Erica multiflora*
- Température

Transpiration en mmgr. par gramme de substance fraîche et par minute (Echelles externes).

Echelles internes

soit à Fontfroide, on constate une transpiration plus forte en août et en novembre (Graph. 9 et tableau 8), aux « Pommettes ».

D'autre part, dans des conditions microclimatiques très voisines (tableau 9), *Erica multiflora* transpire moins qu'*Arbutus unedo*. Il est vrai que, dans ces conditions de vie un peu spéciales, *E. multiflora* présente aux « Pommettes » une intensité de transpiration nettement plus faible qu'à Fontfroide, tandis qu'*A. unedo*, au contraire, en raison de la différence du microclimat, présente aux « Pommettes » une moyenne journalière de transpiration plus élevée (7,2 mgr. en août aux « Pommettes » et 5,5 à Mezouls).

Le maximum est plus accusé (14,8 aux « Pommettes » et 11,7 à Mezouls), mais surtout la transpiration, déjà intense le matin, se continue assez tard dans l'après-midi. Si bien que le sous-bois

TABLEAU N° 10 (Fontfroide).
BRACHYPODIUM PHÆNICOIDES

DATES	TRANSPIRATION EN MG. PAR MINUTE ET PAR GRAMME DE SUBSTANCE :				CONTENU EN EAU DU VÉGÉTAL %
	FRAICHE			SÈCHE	
	MATIN MINIM.	MIDI MAXIM.	MOYENNE JOURNAL.	MOYENNE JOURNAL.	
11 juin 1934	5,8	22,1	18,6	48,9	62
9 juillet	5,0	16,2	12,9	28	54
26 août	6,6	17,0	11,7	23,8	51
17 septembre	5,0	16,5	9,9	20,6	52
20 novembre	6,1	10,0	6,5	18,5	65
23 janvier 1935	6,2	9,2	6,6	16,9	61
2 avril	7,0	24,9	16,3	46,5	65
21 juin	6,7	19,8	14,1	33,5	58
<i>BROMUS ERECTUS</i> (Fontfroide)					
11 juin 1934	9,5	30,1	19,7	61,5	68
9 juillet	7,5	20,9	16,1	39,2	59
26 août	9,2	18,3	12,6	26,8	53
17 septembre	7,5	20,9	11,5	23,4	51
20 novembre	6,8	15,9	9,7	28,5	66
23 janvier 1935	6,1	15,0	9,4	25,4	63
2 avril	11,1	32,4	22,5	75	70
21 juin	7,2	24,1	15,1	39,7	62

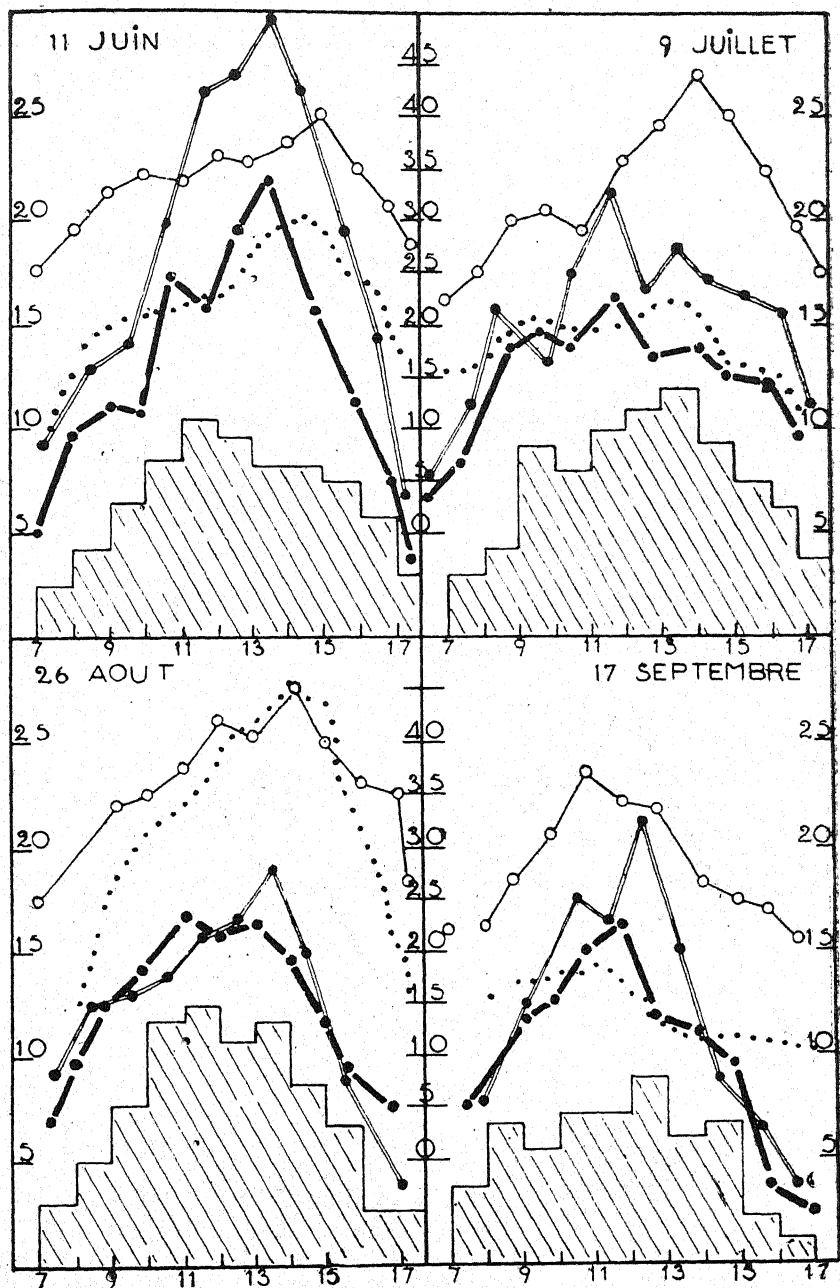
abaisse l'intensité de la transpiration non seulement en diminuant les valeurs des maxima, mais surtout la durée du phénomène : à Mezouls, la transpiration n'est vraiment importante que de 9 heures du matin à deux heures de l'après-midi.

Il est évident encore, comme nous l'avons déjà signalé, que parmi les facteurs microclimatiques, le plus important, dans le sous-bois, est la lumière. Il était nécessaire que le soleil fût assez haut à l'horizon pour pénétrer jusqu'aux lieux de nos expériences.

TABLEAU N° 11

Conditions microclimatiques dans le *Brachypodium phoenicoïdes* à 20 cm. de hauteur en différentes localités.

LOCALITÉS ET DATES	LUMIÈRE LUX		TEMPÉRATURE DEGRÉS		DÉFICIT GRAMMES		ÉVAPORATION CM ³	
	7-8 h.	11-15 maxi.	7-8 h.	11-15 maxi.	7-8 h.	11-15 maxi.	7-8 h.	11-15 maxi.
FONTFROIDE.							GR.	CM ³
1934								
11 juin	—	—	22	39	9	29	0,2	1
9 juillet	—	—	23	43	15	21	0,3	1,1
26 août	9.000	25.500	25	45	15	46	0,3	1,2
17 septembre...	4.000	22.500	22	37	6	17	0,2	0,8
20 novembre...	3.500	18.500	11	13	8	16	0,1	0,3
1935								
23 janvier	6.000	17.800	5	10	1	15	0,1	0,2
2 avril	4.500	21.000	15	36	8	27	0,3	0,9
21 juin	—	—	18	43	12	48	0,3	1,2
VEYRASSY.								
1934								
17 juin	—	—	24	41	6	32	0,2	1
27 août	1.200	3.100	23	43	11	40	0,3	1,3
MEZOULS								
1935								
28 août	2.200	27.100	22	46	8	32	—	—
1935								
22 janvier	3.200	10.000	2	11	0	7	0,1	0,7
22 juin	4.500	17.000	21	45	7	33	0,2	1,1



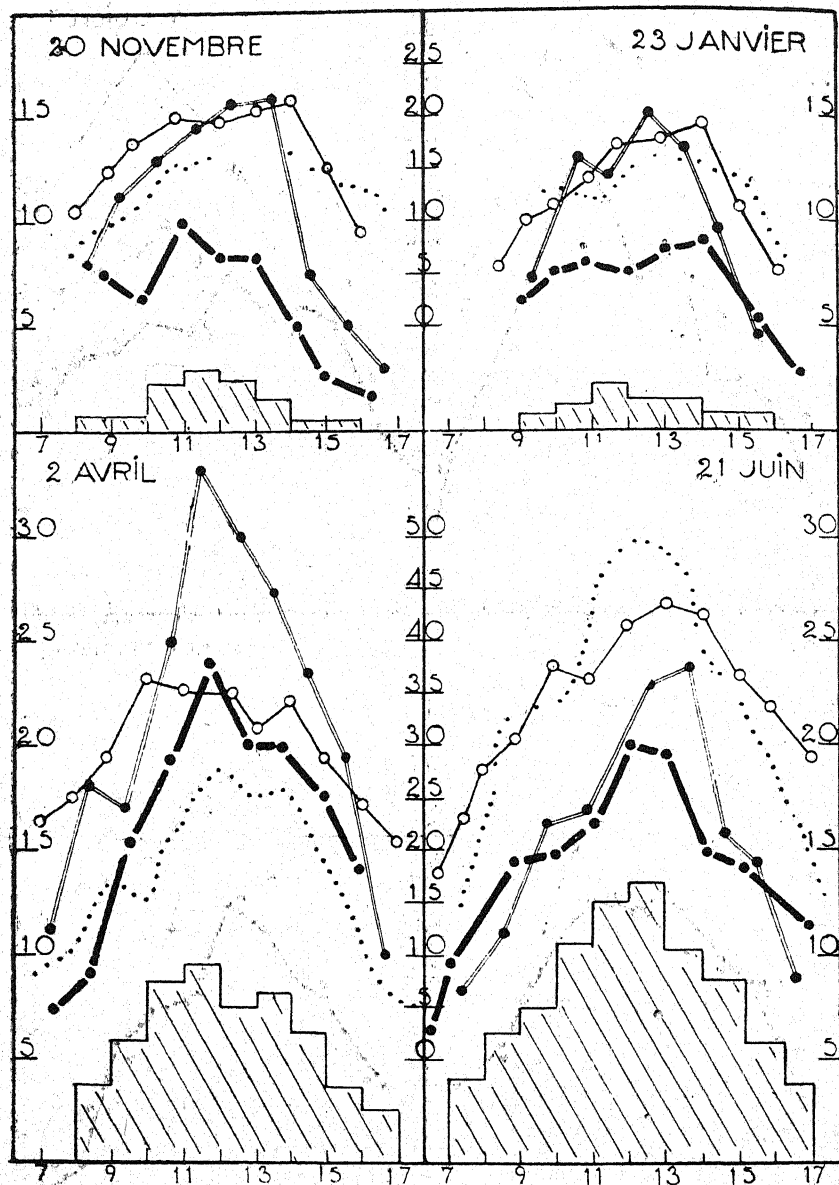
Graphique n° 10. — Courbes journalières de transpiration de *Brachypodium phoenicoides* et de *Bromus erectus* à Fontfroide.

- *Brachypodium phoenicoides*
- *Bromus erectus*
- Température
- Déficit hygrométrique

Transpiration en mmgr. par gramme de substance fraîche et par minute (Echelles externes).

Echelles internes.

Évaporation, bloc hachuré, sans échelle.



Graphique n° 11. — Courbes journalières de transpiration de *Brachypodium phoenicoides* et de *Bromus erectus* à Fontfroide.

- | | | |
|-------|----------------------------------|--|
| ●—● | <i>Brachypodium phoenicoides</i> | } Transpiration en mmgr. par gramme de substance fraîche et par minute (Echelles externes) |
| ●=● | <i>Bromus erectus</i> | |
| o—o | Température | } Echelles internes. |
| | Déficit hygrométrique | |

Évaporation, bloc hachuré sans échelle.

PLANTES HERBACÉES

Les plantes herbacées ont été étudiées dans des pelouses sèches appartenant toutes à l'association à *Brachypodium phoenicoïdes*, mais situées dans différentes localités.

Fontfroide

Au pied de la colline de « La Tour Piquet », s'étend une pelouse herbacée à *Brachypodium phoenicoïdes*; la végétation est dense, sa hauteur est de 0 m.80 environ.

Le sol est un peu plus humide que sur la colline (36% d'eau en hiver et 8 à 9% en été à 30 cm. de profondeur) mais il présente approximativement les mêmes caractéristiques édaphiques.

A cet endroit la transpiration de *Bromus erectus* et de *Brachypodium phoenicoïdes* a été suivie de mois en mois depuis juin 1934 jusqu'à juin 1935.

Medicago falcata, *Foeniculum piperitum*, *Picris umbellata* et *Centaurea aspera* serviront de termes de comparaison.

Brachypodium est une graminée mésoxérophile aussi bien par sa morphologie et son anatomie que par son écologie. C'est une espèce subméditerranéenne, à enracinement profond et possédant des stolons.

Bromus erectus est une espèce eurosibérienne mésophile à feuilles presque glabres et à souche fasciculée.

Les mesures ont toujours été effectuées sur les feuilles basilaires.

Brachypodium et surtout *Bromus* nous ont révélé une forte intensité transpiratoire presque toujours supérieure à celle d'*Erica multiflora*, dans des conditions microclimatiques très voisines (voir tableaux 10 et 11, Graph. 10 et 11). La transpiration de ces deux espèces demeure relativement forte, même pendant la période hivernale (en moyenne 6 et 9 mg.).

Toutefois *Brachypodium* transpire moins que *Bromus* qui possède des racines fasciculées très riches en poils absorbants, et qui, d'autre part, ne présente aucune adaptation structurale lui permettant de modérer sa perte en eau. Il n'est donc pas étonnant qu'au printemps, en avril et même en juin, lorsque *Bromus* a dans le sol encore assez d'eau à sa disposition et que les valeurs des facteurs

microclimatiques augmentent, sa moyenne journalière de transpiration s'élève considérablement (22 mg. en avril 1935).

Par contre, en été, le sol étant desséché, *Bromus* ralentira sa transpiration dont l'intensité s'abaisse à ce moment à celle de *Brachypodium phoenicoïdes*.

Chez *Brachypodium* les racines sont plus profondes, donc probablement alimentées d'une façon plus constante, mais le chevelu radiculaire est moins développé. De plus, dès que la température s'élève un peu et atteint 30-35°, ce végétal enroule ses feuilles, diminuant ainsi sa transpiration ; dès lors les maxima de midi ne seront jamais aussi accusés chez *Brachypodium* que chez *Bromus*, et l'allure des courbes journalières sera plus uniforme. *Brachypodium phoenicoïdes* est en somme garanti contre une transpiration exagérée.

Chez ces deux espèces, comme chez *Erica multiflora*, en avril, l'activité physiologique est intense : la transpiration restera à peu près constante tout l'été chez *Brachypodium*, elle diminuera assez rapidement chez *Bromus*.

Cette dernière espèce appartenant à un climat tempéré (euro-sibérien) achève plus tôt son cycle végétatif. *Brachypodium phoenicoïdes* espèce subméditerranéenne et bien adaptée au climat languedocien, continue à assimiler presque sans interruption en été. On peut dire que, pour la transpiration, *Bromus* est à *Brachypodium*, ce que *Cornus* était à *Coriaria*.

Mais, tandis que *Cornus* avait, dans son protoplasme, moins d'eau (56% en août) que *Coriaria* (62%), ici c'est l'inverse. Et ce fait nous montre que la richesse en eau des tissus n'est pas toujours le signe d'une transpiration plus élevée même chez les plantes non succulentes.

Nous avons d'ailleurs une autre confirmation de cette assertion avec *Foeniculum piperitum* qui malgré sa teneur en eau élevée (82%) en avril ne perdait que 19,1 mg. d'eau par minute et par gramme de substance fraîche à midi, alors que *Medicago falcata* (76% d'eau) transpirait 28 mg. 2 et *Pieris umbellata* (77% d'eau) 33,1 mg.

Medicago falcata se rapproche, par l'allure de sa courbe journalière, de *Bromus*, aussi bien au printemps qu'en été.

Foeniculum piperitum par contre se rapproche davantage de *Brachypodium phoenicoïdes*.

TABLEAU N° 12 (Fontfroide)

ESPÈCES ET DATES	TRANSPIRATION EN MG. PAR MINUTE ET PAR GRAMME DE SUBSTANCE :				CONTENU EN EAU DU VÉGÉTAL %
	FRAICHE			SÈCHE	
	8-9 h.	11-15 h. MAXIM.	MOYENNE JOURNAL.	MOYENNE JOURNAL.	
<i>Medicago falcata.</i>					
2 avril 1935.....	11,1	28,2	21,1	87,9	76
22 juin	12,3	21,1	15,6	52	70
<i>Foeniculum piperitum</i>					
2 avril 1935.....	6,3	19,1	13,8	81,1	83
22 juin	6,9	15,5	11,4	57	80
<i>Centaurea aspera</i>					
9 juillet 1934....	15,1	29,5	21,3	96,8	78
23 janvier 1935...	2,3	14,0	7,1	—	—
2 avril.....	14,2	33,1	24,1	120,5	80
<i>Picris umbellata</i>					
9 juillet 1934....	16,2	25,4	19,3	71,4	73
26 août.....	15,3	23,6	18,9	63	70
22 janvier 1935...	4,1	10,5	—	—	83
2 avril.....	9,2	24,5	—	—	80

Mais, en somme, toutes ces plantes herbacées transpirent beaucoup par comparaison avec les espèces ligneuses. Il en était d'ailleurs de même le 9 juillet et le 26 août 1934 pour *Picris umbellata* et *Centaurea aspera* (voir tableau 12 et Graph. 12 et 13).

Dès lors, à Fontfroide, la transpiration des plantes herbacées s'est révélée nettement plus forte que chez les plantes ligneuses.

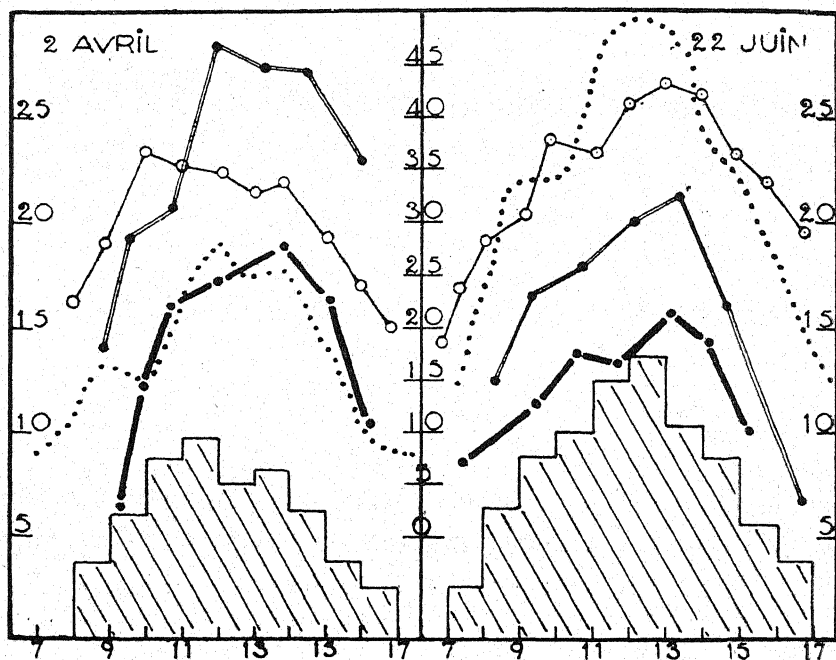
D'autre part, nous pouvons distinguer deux comportements parmi ces espèces :

— dans un premier groupe, ayant pour chef de ligne *Brachypodium phoenicoides*, l'intensité transpiratoire est, en été, plus faible et plus uniforme au cours de la journée.

— dans un deuxième groupe, dont le type est *Bromus erectus*, la transpiration est très élevée au printemps et au début de l'été, puis diminue, devenant comparable à celle des plantes du premier groupe.

A Veyrassy, à proximité du groupement arbustif dans lequel nous avons étudié *Coriaria myrtifolia* et *Cornus sanguinea*, on trouve une pelouse à *Brachypodium phoenicoïdes* mais avec prédominance de *Bromus erectus*.

Nous avons étudié en cet endroit *Bromus erectus*, *Brachypo-*



Graphique n° 12. — Courbes journalières de transpiration de *Foeniculum piperitum* et *Medicago falcata* à Fontfroide.

- | | | |
|-------|-----------------------------|---|
| ■—■ | <i>Foeniculum piperitum</i> | } Transpiration en mmgr. par gramme de substance fraîche et par minute (Echelles externes). |
| ●—● | <i>Medicago falcata</i> | |
| ○—○ | Température | } Echelles internes. |
| | Déficit hygrométrique | |

Évaporation, bloc hachuré, sans échelle.

dium phoenicoïdes, *Centaurea aspera*, *Picris umbellata* et *Inula viscosa*.

Les variations de la transpiration de *Bromus* et de *Brachypodium* sont un peu différentes de ce que nous avons observé à Fontfroide.

C'est ainsi que la différence d'intensité de transpiration entre *Bromus* et *Brachypodium* est ici beaucoup moins accentuée qu'à Fontfroide cette observation est particulièrement évidente en juin, mois d'ailleurs pendant lequel la transpiration de ces deux espèces est plus faible malgré une valeur plus élevée des facteurs microcli-

TABLEAU N° 13

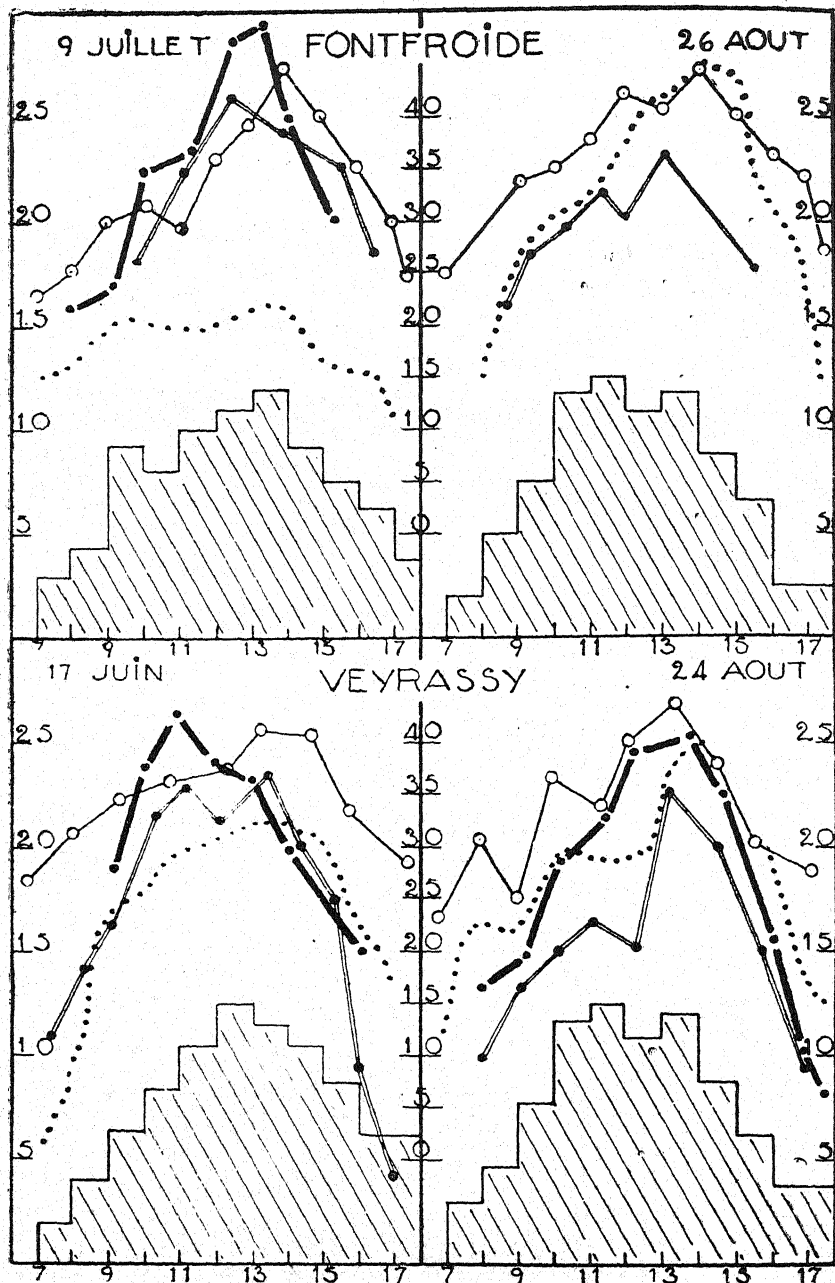
Veyrassy

ESPÈCES ET DATES	TRANSPIRATION EN MG. PAR MINUTE ET PAR GRAMME DE SUBSTANCE :				CONTENU EN EAU DU VÉGÉTAL %
	FRAICHE			SÈCHE	
	MATIN MINIM.	MIDI MAXIM.	MOYENNE JOURNAL.	MOYENNE JOURNAL.	
<i>Brachypodium phoenicoïdes</i>					
17 juin 1934	6,8	16,9	12,7	35,2	64
24 août	5,0	14,4	11,0	24,4	55
<i>Bromus erectus</i>					
17 juin	7,5	22,2	13,1	38,5	66
24 août	8,9	18,5	14,3	34	58
<i>Centaurea aspera</i>					
17 juin	14,7	26,3	19,4	129	85
24 août	13,7	25,1	17,6	73,3	76
<i>Picris umbellata</i>					
17 juin	10,2	23,6	17,4	124	86
24 août	10,1	22,4	15,2	60,8	75
<i>Inula viscosa</i>					
17 juin	11,2	24,4	16,5	61,1	73
24 août	11,0	22,3	16,3	50,9	68

matiques, c'est à-dire température, déficit hygrométrique, évaporation.

En août, par contre les résultats deviennent très comparables à ceux de Fontfroide aussi bien pour le microclimat que pour la transpiration (voir tableaux 11 et 13 et Graph. 14).

Chez *Centaurea aspera* et *Picris umbellata* l'intensité transpira-



Graphique n° 13. — Courbes journalières de transpiration de *Picris umbellata* et de *Centaurea aspera* à Fontfroide et Veyrassy.

- | | |
|-----------------------------|---|
| ●—● <i>Picris umbellata</i> | } Transpiration en mmgr. par gramme de substance fraîche et par minute (Echelles externes). |
| ●=● <i>Centaurea aspera</i> | |
| o—o Température | } Echelles internes. |
| Déficit hygrométrique | |

Évaporation, bloc hachuré, sans échelle.

toire est ici encore très grande ; les valeurs sont très proches de celles obtenues à Fontfroide : 18,4 mg et 17,4 mg. en moyenne à Veyrassy contre 19,3 mg et 21,3 mg à Fontfroide (voir aussi tableau 12 et Graph. 13).

De même la transpiration d'*Inula viscosa* est intense — 14,5 mg en juin et 16,3 mg. en août. La courbe journalière d'*Inula* pourrait être calquée sur celle de *Picris* à la même époque.

Ces trois espèces, *Centaurea*, *Picris* et *Inula*, à feuilles mésophiles, relativement riches en eau ne présentent aucune adaptation permettant de réduire la transpiration. On peut attribuer cette forte intensité de la transpiration au système racinaire relativement profond qui assure une alimentation assez régulière en eau.

Cependant il est intéressant de noter là encore une diminution de la moyenne journalière de la transpiration pendant les mois secs de l'année malgré des valeurs microclimatiques égales et même supérieures ; et ceci nous souligne à nouveau l'influence de la sécheresse du sol sur la transpiration.

TABLEAU N° 14

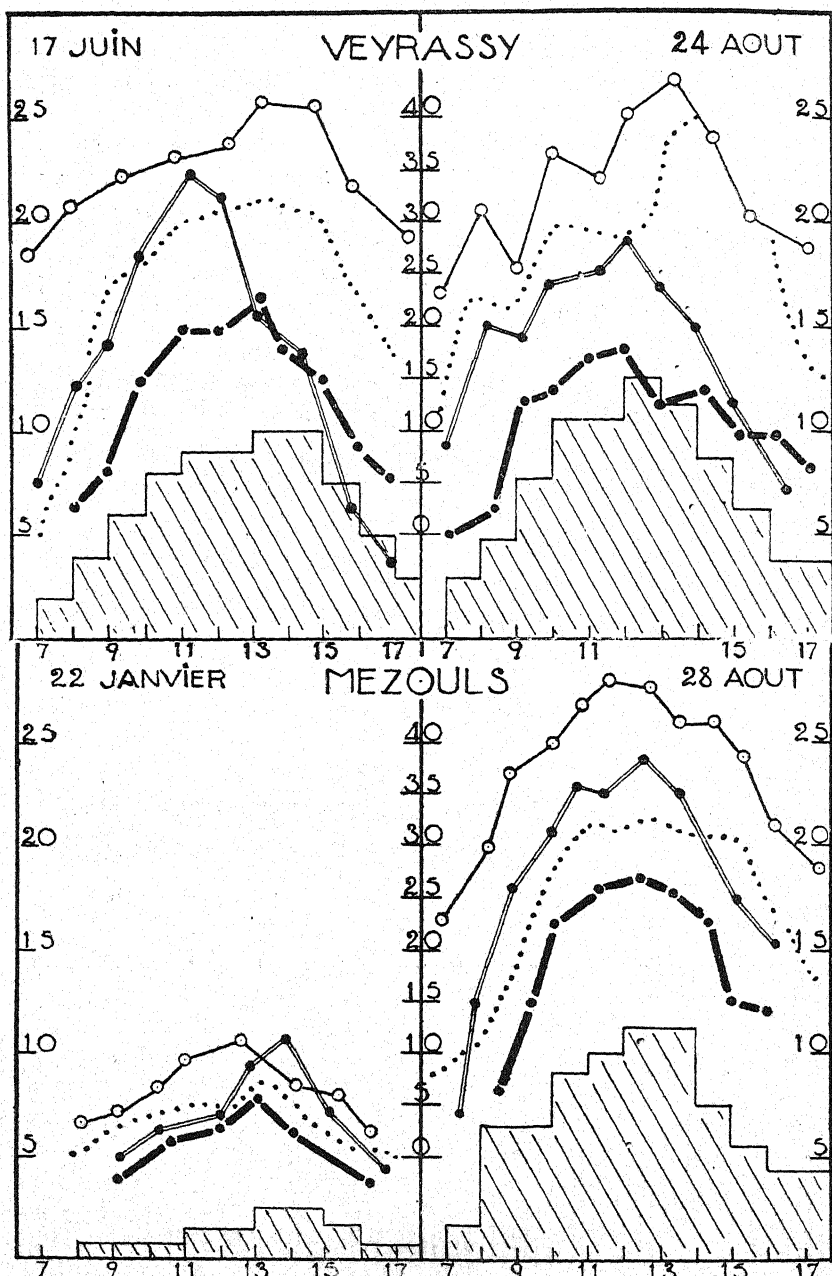
PELOUSE DU *BRACHYPODIETUM PHOENICOIDES* PRÈS
LE BOIS DE MEZOULS.

Transpiration en mg par minute et par gramme de substance fraîche :

DATES	BRACHYPODIUM PHOENICOIDES				BROMUS ERECTUS			
	heures				heures			
	9	12	13	16	9	12	13	16
28 août 1934...	13	17,5	18,2	12,1	15,1	22,9	24,3	15,5
22 janvier 1935.	5,4	6,3	7,5	3,1	5,7	7,1	10,5	4,3
1 ^{er} avril	—	21,3	19,4	—	—	15,2	16,2	—
22 juin	8,2	16,7	18,7	11,2	15,2	18,7	21,9	14

Mezouls

Brachypodium phoenicoïdes et *Bromus erectus* furent aussi étudiés à Mezouls dans l'association à *Brachypodium phoenicoïdes*



Graphique n° 14. — Courbes journalières de transpiration de *Brachypodium phoenicoides* et de *Bromus erectus* à Veyrassy et à Mezouls.

- | | |
|--------------------------------------|---|
| ■—■ <i>Brachypodium phoenicoides</i> | } Transpiration en mmgr. par gramme de substance fraîche et par minute (Echelles externes.) |
| ●—● <i>Bromus erectus</i> | |
| o—o Température | } Echelles internes. |
| Déficit hygrométrique | |

Évaporation. bloc hachuré, sans échelle.

situé à proximité du bois et dans des conditions écologiques comparables à celles de Fontfroide.

Dans cette localité, les chiffres de la transpiration du *Brachypodium* sont très proches des résultats obtenus à Fontfroide pour les mois d'août 1934 et janvier, avril et juin 1935.

TABLEAU N° 15
LA STRATE HERBACÉE DU SOUS-BOIS DE MEZOULS

ESPÈCES ET DATES	TRANSPIRATION EN MMG. PAR MINUTE ET PAR GRAMME DE SUBSTANCE FRAÎCHE			
	HEURES			
	9	12	14	16
<i>Bromus erectus</i>				
2 avril 1935	8,8	11,3	7,5	5,3
22 juin 1935	6,5	9,3	8,2	5,7
<i>Stipa aristella</i>				
2 avril 1935	6,8	12,2	11,1	9,4
22 juin 1935	8,3	10,9	9,2	9,2
<i>Urospermum Daleschampi.</i>				
2 avril 1935	2,2	4,0	3,3	2,9
22 juin 1935	1,9	3,8	3,5	2,8
<i>Hypochoeris radicata</i>				
2 avril 1935	4,8	6,2	5,5	3,5

Bromus erectus transpire davantage en août 1934 à Mezoûls où il présente un maximum plus accentué qu'à Fontfroide. En janvier et avril, par contre, il transpire moins qu'à Fontfroide (voir tableau 14 et Graph. 14).

Ce comportement différent de *Bromus* nous a incité à étudier cette espèce dans des conditions nettement différentes : dans la strate herbacée de la forêt, prenant comme terme de comparaison *Stipa aristella*, *Urospermum Daleschampi* et *Hypochoeris radicata*.

La transpiration de *Bromus*, dans ce milieu écologique spécial était très faible : en avril à midi elle était de 11,3 dans le sous-bois, de 21,3 mg. dans l'association à *Brachypodium phoenicoïdes* à l'orée du bois et de 32 mg 4 à Fontfroide.

Stipa se comporte d'une façon comparable à *Bromus* et les chiffres indiqués sur le tableau 15 sont très voisins.

La transpiration de *Bromus* dans le bois reste encore notable si on la compare à celle des autres espèces aussi bien ligneuses qu'herbacées. Nous voyons en effet que les résultats pour *Urospermum Daleschampii* et *Hypochoeris radicata*, sont nettement plus faibles ; ils sont voisins de 4 mg. à midi. Il est vrai que pour ces deux dernières espèces, aussi bien en avril qu'en juin et août, les stomates étaient fermés ou à peine ouverts et BHARUCHA (1933) a constaté qu'*Urospermum* transpirait fortement en été dans une pelouse du *Brachypodium ramosi* situé en plein soleil.

En somme on peut dire que la transpiration de *Brachypodium phoenicoïdes* est restée approximativement constante d'une localité à l'autre, malgré quelques variations écologiques. Les écarts furent beaucoup plus grands pour *Bromus* qui paraît être nettement plus plastique que le *Brachypodium phoenicoïdes*.

L'influence du microclimat est particulièrement évidente, dans le sous-bois, pour les espèces herbacées ; certaines qui transpiraient deux ou même trois fois plus que les ligneuses dans les pelouses de plein soleil ont ici une intensité de transpiration à peu près identique. Cette influence des facteurs écologiques se retrouve certes chez les plantes ligneuses, mais elle paraît avoir moins d'importance et les écarts sont plus faibles.

La transpiration des espèces herbacées et ligneuses dans le sous-bois est comparable aux données indiquées pour des mêmes formes biologiques de l'Europe centrale. Par contre cette transpiration est considérablement plus élevée sous le climat méditerranéen.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Ces recherches nous montrent que :

1° La transpiration des espèces herbacées est plus forte que celle des espèces ligneuses. Pour HUBER (1932) on doit en chercher la raison dans l'inégalité du diamètre des vaisseaux conducteurs et dans la différence d'intensité du courant de sève ascendante.

2° Chez les espèces ligneuses, dans le sous-bois, le maximum de transpiration est atteint en été.

Dans les associations de plein soleil, c'est au printemps et au

début de l'été que la transpiration est la plus forte. Elle diminue ensuite avec la sécheresse estivale.

Les plantes herbacées de pelouses ensoleillées suivent d'ailleurs la même marche dans leurs variations saisonnières.

3° En hiver, dans la région méditerranéenne, la transpiration des végétaux est relativement importante surtout pour les espèces herbacées.

D'ailleurs les végétaux que nous avons étudiés dans la région languedocienne, nous ont révélé en général une forte intensité de transpiration ; les chiffres que nous avons obtenus sont supérieurs à ceux indiqués par BRAUN-BLANQUET, BHARUCHA et MEIER (1932-33), pour les espèces halophiles et celles des rochers. Seuls *Laurus nobilis* et surtout *Urospermum Daleschampii* et *Hypochoeris radicata* ont des valeurs nettement plus faibles. Mais ces espèces se trouvaient dans un sous-bois dans lequel nous avons montré que la transpiration des végétaux était ralentie par l'abaissement de l'ensemble des valeurs microclimatiques (température, déficit hygrométrique, évaporation et surtout lumière).

Nous avons pu montrer également que les herbacées étaient plus sensibles que les ligneuses à ces variations locales du milieu.

Nous avons cherché la raison de cette forte transpiration, et pensions la trouver dans l'élévation de la température et de l'intensité lumineuse. On connaît en effet toute l'importance de ces deux facteurs.

Les travaux de laboratoire nous ont montré l'influence du facteur photique sur la transpiration, mais on discute encore sur le mécanisme de son action : chlorovaporisation pour certains et en particulier pour VAN TIEGHEM (1884), augmentation de la perméabilité cellulaire d'après LECLERC DU SABLON (1913) (1), excitation spécifique du protoplasme des cellules stomatiques par la lumière pour MAXIMOV (1926) et LUBIMENKO (1928).

Quoi qu'il en soit l'influence de la lumière sur la transpiration

(1) F. CHODAT (1931) émet une hypothèse fort originale sur l'augmentation de la perméabilité cellulaire par la lumière. Pour cet auteur « les rayons ultraviolets activent les stérols, tant ceux qui se trouvent à la périphérie que ceux qui se trouvent à l'intérieur du plasma. Cette activation confère, comme on le sait, des propriétés nouvelles aux lipides irradiés ; il se constitue un complexe analogue par ses propriétés physiologiques à la vitamine D, complexe qui préside à la mobilisation de l'ion Ca dans l'économie cellulaire. Or, on sait que ce métal bivalent est au premier chef le régulateur de la perméabilité cellulaire ».

est indiscutable ; nous avons pu nous-mêmes en souligner l'importance dans la nature à plusieurs reprises et en particulier pour *Arbutus unedo*.

Mais la lumière va de pair avec l'élévation de la température, autre facteur dont l'importance est primordiale soit par une action directe sur le protoplasme (MAXIMOV, 1926), soit sur la perméabilité de la membrane (LECLERC DU SABLON, 1920), soit encore en augmentant l'absorption par l'élévation de la température du sol (WHILTFIELD, 1932).

Mais ces deux facteurs, avec le déficit hygrométrique et l'évaporation, voient parfois leur action contrecarrée par l'abaissement de l'humidité du sol suivie peu après d'une diminution de l'eau dans les tissus amenant une plus forte concentration.

Ces modifications internes plus ou moins importantes ont leur répercussion sur le degré d'ouverture des stomates et là intervient la notion de spécificité avec toutes ses conséquences, si bien qu'il est extrêmement difficile de tirer, dans la nature, avec l'état actuel de nos connaissances une ou un ensemble de relations directes entre les stomates et la transpiration.

Il en résultera des courbes journalières de transpiration d'allure fort différente suivant les espèces.

En plein soleil, certains végétaux pourront se permettre de transpirer toute la journée parce qu'ils transpireront peu chaque fois ; d'autres, au contraire, auront un maximum plus élevé, mais leurs stomates se fermant par suite de modifications internes (concentration du suc cellulaire et transformations physico-chimiques) la courbe s'abaissera brusquement à partir de midi. Si bien qu'un chiffre, même s'il indique une valeur minima ou maxima, aura pour le végétal une signification beaucoup moins importante que la moyenne journalière de transpiration établie en opérant d'heure en heure, du matin au soir.

De plus et en particulier avec les herbacées et surtout avec les plantes ligneuses à feuilles caduques, il nous est apparu que l'on devait tenir compte du cycle végétatif de l'espèce étudiée et du degré de vitalité des feuilles expérimentées. D'où la nécessité sur laquelle nous ne saurions trop insister, à la suite de BRAUN-BLANQUET, de suivre la transpiration du matin au soir et durant tout le cycle de

végétation. Dans le cas des plantes vivaces, il sera indispensable d'opérer toute l'année de mois en mois.

Ceci nous montre la complexité du problème, les difficultés auxquelles on se heurte lorsqu'on veut expérimenter dans la nature. Parmi la constellation des facteurs, externes ou internes, qui viennent influencer la transpiration, on assiste parfois à un antagonisme de certains d'entre eux ou au contraire à une exagération de leur influence.

Mais, à notre avis, ce n'est que par de nombreux et patients travaux de cette nature, et en cherchant à se placer, comme le demande à juste titre BRAUN-BLANQUET, dans les conditions écologiques optimales de végétation, réalisées pour chaque espèce dans un seul ou dans quelques groupements-associations, que l'on arrivera à saisir les grandes lois qui régissent la transpiration des végétaux.

En terminant nous tenons à exprimer notre gratitude à M. BRAUN-BLANQUET, directeur de la Station internationale de Géobotanique méditerranéenne et alpine ; il fut pour nous le guide affectueux et compétent sans lequel il nous eut été impossible de réaliser ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- ALEXANDROV (W.-G.) (1927). — Ueber die Transpirationsintensität der Pflanzen. *Ber. d. deutschen bot. Gesell.*, II, Bd. 45, 67.
- BHARUCHA (F.) (1933). — Etude écologique et phytosociologique de l'association à *Brachypodium ramosum* et *Phlomis lychnitis* des garigues languedociennes. *Comm. n° 18 de la Station Internationale de Géob. Méditerranéenne et Alpine (S.I.G.M.A.)*. Montpellier.
- BONNIER (G.) et MANGIN (L.) (1884). — Recherches sur la respiration et la transpiration des champignons. *Ann. Sc. Nat.*, 6^e sér., t. XVII.
- BRAUN-BLANQUET (J.) (1932). — Plant Sociology, the study of plant communities. trad. Fuller (C.) et Conard (H.). New-York and London.
- BRAUN-BLANQUET (J.) und WALTER (H.) (1931). — Zur Oekologie der Mediterranpflanzen. *Comm. n° 8, S.I.G.M.A.*, Montpellier.

- BRIGGS and SHANTZ (1916). — Hourly transpiration rate on clear days as determined by cyclic environmental factors. *Journ. of Agric. Research.* V, VII.
- CHODAT (F.) (1931). — Influence de la lumière sur la transpiration végétale. *C. R. Soc. Phys. et Hist. Nat. de Genève.* V. 48, n° 4.
- FIRBAS (F.) (1931). — Die Wirkung des Windes auf die Transpiration. *Ber. d. deutschen bot. Gesell.* Bd. XLIX, 9.
- FIRBAS (F.) (1932). — Ueber die Ausbildung des Leitungssystem, und das Verhalten der Spaltöffnungen im Frühjahr bei Pflanzen des Mediterrangebietes und der tunesischen Steppen und Wüsten. *Comm.* n° 12, *S.I.G.M.A.*, Montpellier.
- GIROUX (J.) (1934). — *Erica multiflora* L. Etude anatomique, chimique et écologique. *Comm.* n° 27, *S. I. G. M. A.*, Montpellier.
- GIROUX (J.) (1936). — Recherches biologiques sur les *Ericacées* languedociennes. *Comm.* n° 47, *S.I.G.M.A.*, Montpellier.
- GUTTENBERG (H.) (1927). — Studien über das Verhalten der immergrünen Laubblätter der Mediterranflora. *Planta Archip. f. Wissensch. Bot.*, Bd. IV, 721.
- HARDER (R.), FILZER (P.) und LORENZ (A.) (1933). — Notizen über Evaporation und Transpiration in der Algerischen Wüste bei Beni-Unif. *Flora oder Allgemeine Bot. Ztg.*
- HUBER (Br.) (1927). — Zur Methodik der Transpirationsbestimmung am Standort. *Ber. d. deutschen bot. Gesell.*, Bd. 45, H.9.
- ILJIN (W.-S.) (1915). — Die Probleme der vergleichenden Studiums der Pflanzen transpiration. *Beiheft z. Bot. Zentralblatt.* Bd. 31, 36.
- IVANOFF (L.) (1928). — Ueber die Transpiration der Holzgewächse im Winter. *Ber. d. deutschen Bot. Gesell.*, Bd. 46.
- IVANOFF (L.) (1928). — Zur Methodik der Transpirationsbestimmung am Standort. *Ber. d. deutschen. Bot. Gesell.*, Bd. 46, 306.
- KAMP (H.) (1930). — Untersuchungen über den Kutikularbau und kutikulare Transpiration bei Blättern. *Jahrb. f. Wiss. Bot.*, Bd. 72, 403.
- KILLIAN (Ch.) (1932). — Recherches écologiques sur les fluctuations saisonnières de la transpiration chez les végétaux du climat méditerranéen. *Bull. Soc. Bot. France.* T. 79, 460.
- LECLERC DU SABLON (1909). — Sur la signification du dégagement de vapeur d'eau par les plantes. *Rev. Gén. Bot.* T. 21, 295.
- LECLERC DU SABLON (1920). — Le rôle de l'osmose en biologie. Flammarion, édit. Paris.
- MAXIMOV (N.-A.) (1926). — Basés physiologiques de la résistance des plantes à la sécheresse. *Travaux de botanique et de sélection expérimentale.* Leningrad. pp. 1-436.
- MAXIMOV (N.-A.) (1929). — The plant in relation to water. *Ed. by Japp.* London.
- MEIER (H.) (1934). — Ecologie des plantes rupestres (Chasmophytes) du Languedoc pendant la période de grande sécheresse d'été. *Comm.* n° 29 *S.I.G.M.A.*, Montpellier.

- MOLLIARD (M.) (1933). — Nutrition de la plante. Echanges d'eau et de substances minérales, Paris.
- MOTHES (1932). — Ernährung, Struktur, Transpiration, ein Beitrag zur kausalen Analyse der Xeromorphosen. *Biol. Zentralbl.* III. 193.
- PISEK (A.) und CARTELLIERI (F.) (1932). — Zur Kenntnis des Wasserhaushaltes der Pflanzen. I. Sonnenpflanzen. II. Schattenpflanzen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, Bd. LXXV. H. 5, 643.
- PLANTEFOL (L.) (1927). — Etude biologique de l'*Hypnum triquetrum*. Relations entre la Morphologie, la Physiologie et l'Ecologie d'une espèce végétale. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 10^e S., 8, I.
- SCHRATZ (E.) (1931). — Zum Vergleich der Transpiration xeromorpher und mesomorpher Pflanzen. *The Journ. of Ecology*. V. XIX, n° 2.
- SCHRATZ (E.) (1932). — Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Transpiration und Blätterstruktur. *Planta*. 16, 17.
- SEYBOLD (A.) (1929-30). — Die pflanzliche Transpiration, I und II. *Ergebnisse d. biol. Gesell.* Berlin.
- SEYBOLD (A.) (1931). — Weitere Beiträge zur Kenntnis der Transpirationsanalyse. *Planta, Archiv. f. wiss. Bot.*, Bd. 13 et 14.
- SOLOVSKI-IRTEL (E.). — L'élément induit et l'élément autonome dans le rythme des mouvements des stomates chez *Impatiens Sultani* Hook. *Thèse*, Genève.
- SOROCEANU (E.) (1936). — Recherches phytosociologiques sur les pelouses mésoxérophiles de la plaine languedocienne (*Brachypodium phoenicoides*) *Comm. n° 41 S.I.G.M.A.*, Montpellier.
- STOCKER (O.) (1929). — Eine Feldmethode zur Bestimmung der momentanen Transpirations- und Evaporationsgrösse. *Ber. d. deutschen bot. Gesell.* Bd. XLVII, H. 2.
- STOCKER (O.) (1931). — Transpiration und Wasserhaushalt in verschiedenen Klimazonen. I. Untersuchungen an der arktischen Baumgrenze in Schwedisch Lappland. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, Bd. LXXV, H. 3.
- STOCKER (O.) (1931). — II. Untersuchungen an der ungarischen Alkalisteppes. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, Bd. LXXVIII, 45.
- SZYMKIEWICZ (D.) (1933). — Recherches écologiques. I. Capacité transpirationnelle. II. La détermination quantitative du xérisme. *Cosmos*. F, LVII, n° 3 Lwow.
- URSPRUNG (A.) und BLUM (G.) (1930). — Zwei neue Saugkraftmessmethoden. I. Die Kapillarmethode. II. Die Habelmethode. *Jahrbuch f. wiss. Bot.*, Bd. LXXII, H. 2.
- VOLK (O.-H.) (1934). — Ein neuer botanische Zwecke geeigneter Lichtmesser Berichten d. *Deutsch. Bot. Gesell.*, Bd. LII, H. 4.

RECHERCHES SUR LA GÉNÉTIQUE DES ASCOMYCÈTES DU GENRE *NEUROSPORA*

par M. Fernand MOREAU et Mlle C. MORUZI

(Suite et fin)

CHAPITRE III

LA BIPOTENTIALITÉ SEXUELLE DU *NEUROSPORA SITOPHILA*

Nous avons vu comment l'étude de la descendance d'un certain nombre de souches de *Neurospora* nous a conduits à considérer qu'elles ne sauraient être tenues comme possédant une constitution génétique simple; il ne suffit pas de supposer avec DODGE la présence dans leurs noyaux de l'un des facteurs + ou — pour prévoir, dans toutes les circonstances, leur comportement sexuel, mais dans plusieurs cas particuliers on est invité à admettre que ces deux facteurs sont juxtaposés dans chacun de leurs noyaux; même quand elles sont hétérothalliques, elles se montrent potentiellement bisexuées. La notion de la bipotentialité sexuelle des *Neurospora* hétérothalliques a constitué, avec celle de leur bipotentialité au point de vue du caractère conidial ou asporique, l'une des acquisitions les plus importantes du chapitre précédent.

Cette même notion de la bipotentialité sexuelle des *Neurospora* s'imposera avec une force nouvelle à la suite de l'étude que nous allons faire de réactions sexuelles imparfaites et d'infractions au schéma bipolaire de la sexualité chez ces mêmes Champignons.

I. — Les étapes de la formation des périthèces chez les *Neurospora*.

Nous avons indiqué que la formation des périthèces se fait en principe, chez les *Neurospora* hétérothalliques, grâce au rapprochement de souches de signes contraires et conformément aux règles du schéma bipolaire. Les tableaux qui expriment les confrontations que DODGE et ses élèves ou nous-mêmes avons faites de telles souches sont identiques par leur présentation à ceux qui sont offerts par certains Basidiomycètes. Indiquons ici que ces derniers Champignons connaissent plus généralement des modalités plus complexes que les précédentes et obéissent souvent dans les confrontations de leurs souches complémentaires au schéma tétrapolaire, dont les Ascomycètes n'ont présenté jusqu'ici aucun exemple.

Dans les cas qui ont été précédemment envisagés, les *Neurospora* se sont soumis strictement aux règles de la bipolarité sexuelle ; les réactions entre souches de signe opposé ont donné lieu à la production de périthèces et d'ascospores : la réaction sexuelle est totale et la confrontation des souches de signe contraire nous est apparue nécessaire pour que les périthèces prennent naissance.

Nous avons dit cependant que les souches hétérothalliques, impropres à former des périthèces producteurs d'ascospores tant qu'elles demeurent isolées, peuvent, sans le concours d'une souche complémentaire, former des ébauches de périthèces sous la forme de sclérotés de petite taille qui ont la valeur de périthèces avortés.

Leur production ou leur absence, leur abondance ou leur rareté, ainsi que leur couleur, sont des caractères de souches ; nombreux et gris, ils obscurcissent les cultures ; nombreux et incolores, ils leur valent un aspect granuleux ; leur absence confère aux cultures une couleur plus claire et un aspect plus uniforme.

Ces deux productions, périthèces et petits sclérotés, apparaissent en raison de la présence, à leur origine, d'ascogones semblables comme de même nature. Les petits sclérotés sont des périthèces arrêtés de bonne heure dans leur développement.

Aussi conçoit-on que, dans certains cas, le développement des petits sclérotés se poursuive et qu'on puisse observer diverses étapes de la formation des périthèces dans le sens de la production de périthèces ascospores. Il en est bien ainsi et il nous est possible de signa-

ler toute une série d'exemples de formation de périthèces imparfaits, de plus en plus voisins des périthèces fertiles, dont la production apparaît comme le résultat de réactions sexuelles imparfaites atténuées et constitue comme autant d'intermédiaires entre la formation des sclérotés de petite taille, fournis par un mycélium isolé, et celle des périthèces mûrs, produit de la réaction l'un sur l'autre de deux mycéliums complémentaires.

Ainsi, les souches 32 et 36 sont des souches hétérothalliques de signes contraires ; réunies dans une même culture, elles donnent lieu à la production d'une zone de périthèces de chaque côté de la ligne suivant laquelle s'affrontent leurs mycéliums. De plus, les nombreux petits sclérotés formés du côté de la souche 32 grossissent légèrement et noircissent, dans la région qui produit des périthèces, sous l'influence du mycélium de la souche 36. Nous interprétons ce fait comme l'amorce d'une réaction, qui demeure très imparfaite, d'un mycélium sur un autre, de signe contraire au sien.

Un développement plus étendu des ébauches périthéciales conduit à la formation de sclérotés volumineux : ce sont des formations arrondies, atteignant la taille des périthèces, mais demeurant sphériques, dépourvus de bec ; leur enveloppe reste brune et n'oppose à l'écrasement qu'une faible résistance ; on n'y trouve point d'ascospores. On peut les considérer comme des périthèces immatures. L'étude cytologique montre en effet que l'ascogone n'y a pas conservé l'état primitif sous lequel on le rencontre dans les sclérotés de petite taille ; il a fait place à des hyphes ascogènes dont le développement s'arrête avant la production des asques.

De tels sclérotés se forment parfois en très petit nombre et d'une manière capricieuse dans des cultures renfermant une seule souche hétérothallique, mais on les obtient plus aisément et plus abondamment par la confrontation de deux souches de signes contraires et même de deux souches de même signe.

Ainsi, on en observe lors de la confrontation dans des tubes en U du *Neurospora sitophila* B de DODGE et du *Neurospora*, souche de Bordeaux, de signe opposé au précédent ; ils apparaissent dans nos premières expériences [30] dans la branche qui a reçu le *Neurospora* B, tandis que l'autre montre des périthèces fertiles. Nous interpré-

tons la formation de ces périthèces immatures comme une réaction atténuée de l'un des mycéliums sur l'autre.

Nous avons encore souvent observé leur production dans des cultures mixtes renfermant des souches de même signe. Ainsi, si on confronte les souches 28, 31, 64, 66, 67, 68, 100 avec la souche 17, on obtient des périthèces ; il en est de même si on réunit dans une même culture l'une des souches 12 I, 65, 83 et la souche 18. Mais si on réalise les confrontations inverses (28, 31, 64, 66, 67, 68, 100 d'une part, et 18 ; 12 I, 65 ou 83, et 17) on observe la production de périthèces immatures.

Nous avons observé encore, dans des cultures âgées en particulier, des sclérotés volumineux, au terme de leur évolution, assez semblables à des périthèces pour qu'il soit nécessaire de pratiquer un examen microscopique pour distinguer les deux formations : le sclérote acquiert un bec, une coque noire et dure et ressemble à un périthèce mûr, sauf par l'absence de spores. C'est là un pas de plus vers la production de périthèces typiques. Nous avons observé ce cas particulier dans les cultures mixtes où sont en présence d'une part la souche 18, d'autre part l'une des souches 64 ou 66 ; ces dernières, qui fournissent dans leurs cultures mixtes avec la souche 17 de nombreux périthèces ascospores donnent lieu, en présence de la souche 18, de même signe qu'eux, à une réaction sexuelle atténuée et à la production de périthèces qui n'atteignent pas la maturité.

Enfin, il est très intéressant de constater que certains de ces sclérotés peuvent en tout petit nombre poursuivre leur évolution jusqu'au stade de périthèce parfait. L'observation en a été faite dans les conditions suivantes :

Les souches 83 et 18 donnent des périthèces ascospores lorsqu'on les cultive ensemble. On doit donc les tenir pour affectées de signes contraires, et par suite on doit considérer comme de même signe les souches 83 et la souche 17, elle-même de signe opposé à celui de 18. Or, de la rencontre de 83 et 17 résulte la formation de gros sclérotés, sans spores, parmi lesquels nous avons observé *un* unique périthèce pourvu, d'ascospores.

De même, les souches 67 et 68, de même signe, puisque toutes deux donnent des périthèces en présence de la souche 17 et seulement de gros sclérotés en présence de 18, ont fourni ensemble une culture riche en gros sclérotés, parmi lesquels *quelques* formations plus

grosses, plus noires, au bec plus accusé, renfermaient seules des ascospores.

Il en est de même dans les cultures réunissant les souches 18 et 64, réputées de même signe.

La notion de l'hétérothallisme des *Neurospora* s'altère et perd de sa rigueur en présence de ces observations. Il se dégage des faits qui précèdent que les souches homothalliques ne sont pas essentiellement différentes des souches hétérothalliques. Ces dernières ébauchent souvent la formation de périthèces qu'elles conduisent plus ou moins loin dans la direction des périthèces parfaits. L'action d'une souche complémentaire provoque, par les voies les plus sûres, la formation de périthèces ascospores ; l'action d'une souche de même signe se montre exceptionnellement capable de produire le même résultat ; plus souvent, elle mène à la production de gros sclérotés, à la faveur d'une réaction atténuée ; plus rarement l'évolution des ébauches périthéciales se poursuit jusqu'à l'évolution des sclérotés volumineux dans les cultures mixtes de signe contraire du côté qui ne forme pas de périthèces ou dans les cultures simples des souches hétérothalliques. Dans ce dernier cas, on peut voir dans leur formation une tentative avortée vers l'homothallisme.

En présence de tous ces faits, on a l'impression qu'on observe les étapes d'un même phénomène : en principe, toutes les souches de *Neurospora* paraissent capables de former des périthèces. Les souches homothalliques les forment aisément, sans le secours d'une forme complémentaire. Les formes hétérothalliques les produisent avec assez de certitude lorsqu'on les associe d'une manière convenable, lorsqu'on confronte des souches de signes contraires et d'une façon tout à fait exceptionnelle lorsqu'on confronte des souches de même signe. Le plus souvent les cultures mixtes de souches de même signe ou les cultures simples des souches hétérothalliques permettent d'observer de simples ébauches de périthèces sous la forme de sclérotés déjà développés ou sous l'aspect de rudiments périthéciaux que constituent les sclérotés de petite taille.

Ainsi s'impose à l'esprit la notion que l'homothallisme ne s'oppose pas nettement à la condition hétérothallique et que les souches réputées hétérothalliques sont en fait potentiellement homothalliques. C'est l'idée de la bipotentialité sexuelle des *Neurospora* hétérothalliques qui se présente à nous, tout comme à l'issue

du chapitre précédent, mais fortifiée par une nouvelle argumentation.

Elle s'imposera avec une force nouvelle dans les pages suivantes que nous consacrerons à des irrégularités des réactions sexuelles chez les *Neurospora*.

II. — De quelques irrégularités de la formation des périthèces chez les *Neurospora* hétérothalliques.

Des dérogations aux règles de la sexualité bipolaire ont été parfois observées dans nos cultures, chez les *Neurospora* hétérothalliques, lorsque nous avons confronté avec les nôtres des *Neurospora* d'origine étrangère.

L'un d'eux a été retrouvé en Angleterre par PETCH [43] sur des arbres brûlés, dans la localité de King's Lynn (Norfolk), où déjà en 1899 on l'avait observé après l'incendie d'un moulin à huile.

Très aimablement, M. PETCH a bien voulu nous faire l'envoi d'une de ses cultures. Le mycélium que nous avons reçu, abondamment conidifère, ne formait pas de périthèces; nous l'avons placé en face de nos souches 17 et 18 et la confrontation de la souche anglaise et de notre souche 17 donna lieu à la production de nombreux périthèces. Le *Neurospora* de M. PETCH s'est donc comporté dans nos cultures comme l'eut fait un *Neurospora* du signe de notre souche 18; il n'a donné lieu de notre part à aucune autre observation.

Au contraire, les confrontations de nos souches avec les souches A et B de DODGE nous ont fourni des résultats inattendus.

Désireux d'établir la correspondance entre la nomenclature employée par nos confrères américains pour désigner les deux sexes de *Neurospora sitophila* (sexe A, sexe B), et celle que nous-mêmes avons utilisée dans les pages précédentes (sexe de 17, sexe de 18), nous avons rapproché nos souches étalon 17 et 18 des souches de DODGE.

Les cultures mixtes de A et de 18, comme celles qui réunissent B et 17 fournissent constamment des périthèces, dans les conditions générales qui permettent la formation de ces organes. A et 17 apparaissent de même signe ainsi que B et 18. Par suite, on s'attend à ce que les cultures mixtes de A et de 17, comme celles de B et de 18, demeurent stériles.

C'est en effet ce qu'on constate parfois et le tableau X traduit les faits observés.

TABLEAU X

	17	18
A	-	+
B	+	-

Mais d'autres fois, les cultures doubles A et 17, B et 18 sont productrices de gros sclérotés, témoignage d'une réaction sexuelle imparfaite entre les souches rapprochées.

D'autres fois encore, elles produisent des périthèces ascospores ; les confrontations deux à deux des quatre souches A, B, 17, 18 se montrent alors toutes fertiles (Tableau XI).

TABLEAU XI

	A	B	17	18
A	-	+	+	+
B	+	-	+	+
17	+	+	-	+
18	+	+	+	-

Ces faits devaient nous amener à confronter avec les souches A et B un certain nombre des souches dont nous connaissons déjà le comportement vis-à-vis des souches 17 et 18, afin de chercher si la règle de fertilité accrue suivie par les souches précédentes est générale. Le résultat de ces nouvelles expériences est fourni par le tableau ci-après (Tableau XII).

Des souches du signe de 18 telles que 15, 16, 19, 20, 22, 24, 32, 33, 34, 67, 68, qui donnent avec 17 des périthèces mûrs sont confrontées avec A ; des périthèces se forment. Ces mêmes souches sont-elles mises en présence de B ? les unes, 15, 16, 22, 33, 34, 68

donnent lieu à la formation de péri-thèces, tandis qu'avec d'autres 19, 20, 24, 32, 67, on observe seulement la formation de gros sclérotés :

De même, certaines souches du signe de 17 (10 B, 12 I, 12 II, 12 III, 12 IV, 12 V, 13, 17, 21, 23, 25, 26), dont les cultures avec 18 donnent des péri-thèces, en fournissent également avec B ; les unes, comme 10 B, 17, 26 jointes à A dans une même culture, permettent l'observation de péri-thèces ; les cultures mixtes de A et des autres n'en donnent point, mais plusieurs 12 I, 12 II, 12 III, 12 IV, 12 V, 23, donnent avec A de volumineux sclérotés.

Beaucoup de souches se comportent donc de la même manière vis-à-vis de A et de 17, beaucoup ont la même attitude en présence de B et de 18 ; dans l'ensemble, A se montre encore du signe de 17, B du signe de 18 ; mais cette règle supporte plusieurs dérogations ; les signes + épars çà et là dans les champs de signes — montrent que la fertilité est plus grande qu'on pourrait s'y attendre entre nos souches et les souches étrangères des cultures de DODGE.

Ces faits altèrent la rigidité du schéma bipolaire auquel obéissent, dans l'ensemble, les mycéliums hétérothalliques des *Neurospora*.

Ces diverses observations présentent un double intérêt. Certaines concernent des faits qui entrent dans le cadre du chapitre précédent.

TABLEAU XII

68	+	+	—	+
67	+	+	—	—
34	+	+	—	+
33	+	+	—	+
32	+	+	—	—
24	+	+	—	—
22	+	+	—	+
20	+	+	—	—
19	+	+	—	—
16	+	+	—	+
15	+	+	—	+
B	+	+	+	—
A	—	+	+	+
26	+	—	+	+
25	—	—	+	+
23	—	—	+	+
21	—	—	+	+
17	+	—	+	+
13	—	—	+	+
12 V	—	—	+	+
12 IV	—	—	+	+
12 III	—	—	+	+
12 II	—	—	+	+
12 I	—	—	+	+
10 B	+	—	+	+
A	17	18	B	

D'autres nous révèlent entre les souches de DODGE et les nôtres une fertilité plus grande que celle qu'on devrait attendre, si les *Neurospora* se conformaient strictement aux règles de la sexualité bipolaire.

L'hypothèse simple, aux termes de laquelle un facteur logé dans le noyau de la spore initiale d'un mycélium hétérothallique détermine le signe de ce dernier, ne permet pas aisément l'explication de ces cas de fertilité inattendue. Si on veut conserver le symbolisme de la représentation factorielle des caractères, on est conduit à admettre que chaque souche est pourvue à la fois des deux signes + et — ; elle est potentiellement bisexuée.

Nous retrouvons, par une voie nouvelle, et nous rencontrons pour la troisième fois, cette notion de la bipotentialité sexuelle des *Neurospora*.

CONCLUSIONS

Deux notions importantes serviront de conclusion à ce mémoire : celle de la bipotentialité des *Neurospora* au point de vue des caractères conidial et aconidial et celle de leur bipotentialité sexuelle.

Si on en croit DODGE et ses collaborateurs, aux deux signes dont peut être affecté un mycélium hétérothallique de *Neurospora* correspondent des facteurs logés dans les noyaux ; les symboles + et — représentent ces facteurs dans le langage de DODGE ; de même C et c représentent les facteurs, également logés dans les noyaux, responsables du caractère conidial ou aconidial des mycéliums. Les facteurs + et — seraient associés dans le noyau de fusion de l'asque jeune des formes hétérothalliques et se disjoindraient au cours des divisions méiotiques de l'asque âgé ; 4 spores recevraient le facteur +, 4 le facteur —. Pareille disjonction se produirait entre les facteurs C et c rapprochés dans un même asque sans doute à la suite d'une hybridation d'une souche conidiale et d'une souche aconidiale.

Dans cette manière de voir, une spore ou un mycélium d'un *Neurospora* hétérothallique peuvent être représentés conformément au Schéma I dans lequel les petits cercles enfermant les symboles représentent les noyaux.

Ce symbolisme rend compte, nous l'avons vu, des cas les plus fréquents, où sont en cause des spores de taille ordinaire dans un matériel hétérothallique.

Il s'applique sans difficulté à bien des cas dans lesquels interviennent des spores de taille un peu supérieure à la normale. DODGE

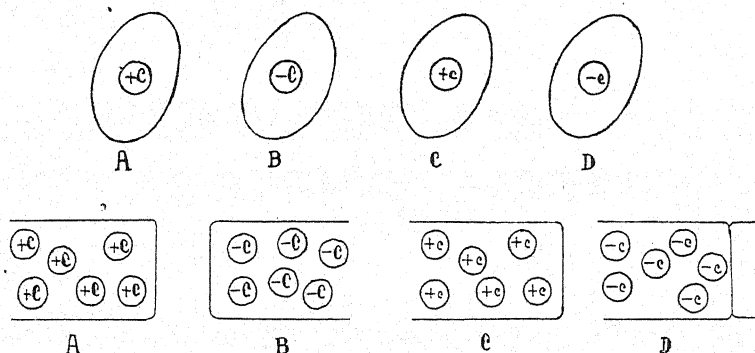


Schéma I. — Spores (ligne supérieure) et mycéliums (ligne inférieure) des *Neurospora* hétérothalliques dans l'hypothèse de l'unipotentiaité sexuelle.

A	souche conidiale	telle que	25
B	—	—	31
C	— aconidiale	—	17
D	—	—	18

l'a étendu au cas du *N. tetrasperma* aux spores doubles ; celui des spores triples ou quadruples se plie aisément à lui (schéma II).

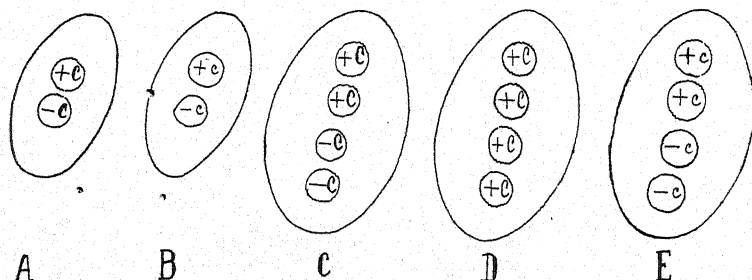


Schéma II. — Spores de taille supérieure à la moyenne dans l'hypothèse de l'unipotentiaité :

A	Spore double du <i>N. tetrasperma</i> .
B	— double, origine des souches 47 et 27, asporique et homothallique.
C	— initiale de la souche 14, conidiale et homothallique.
D	— — — 13, conidiale et hétérothallique.
E	— — — 67, asporique et homothallique.

Il n'en va plus de même dans le cas des spores de très grande taille, initiales de mycéliums hétérothalliques. Une spore qui équivaut à plus de 4 autres, renferme initialement plus de 4 noyaux, et par suite ne saurait contenir uniquement des facteurs + ou —, C ou c, d'une seule sorte. Bien des spores, telles que les initiales des souches 21 ou 68 sans doute équivalentes aux huit spores d'un asque devraient être représentées par la fig. A du schéma III, et cependant elles engendrent des mycéliums hétérothalliques et asporiques. Il faut admettre alors que entre les noyaux de la spore primitive une concurrence s'est élevée; les noyaux renfermant le facteur C auraient disparu (fig. B du schéma III) ou ne tiendraient dans le mycélium issu de la spore initiale qu'une place effacée, peut-être parce que moins nombreux (fig. C du schéma III).

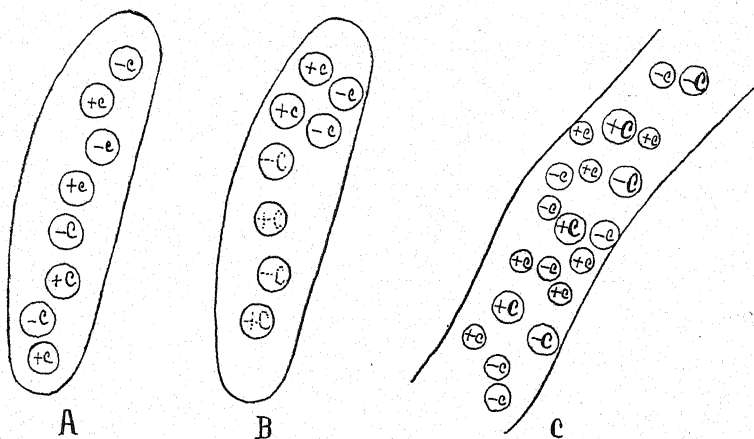


Schéma III

- A Spore initiale des souches 21 et 68 dans l'hypothèse de l'unipotentialité.
 B. La même dans l'hypothèse d'une disparition des noyaux affectés du facteur C.
 C. Mycéliums des mêmes souches, dans l'hypothèse d'une prépondérance des noyaux affectés du facteur c.

On s'explique dès lors le comportement d'un mycélium tel que 12 IV, mutante hétérothallique du mycélium 12 IV homothallique, capable de faire retour à l'état homothallique (schéma IV).

Toutefois, ce symbolisme simple et l'hypothèse qu'il exprime ne rendent pas compte d'un certain nombre de cas tels que les suivants : la naissance de souches homothalliques à partir de spores de petite taille, parfois même de taille inférieure à la normale, l'appar-

rition de souches conidiales à partir de spores nées dans les périthèces issus du rapprochement de souches aconidiales.

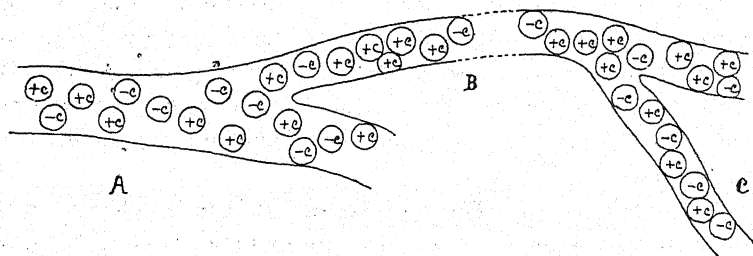


Schéma IV

- A. Mycélium de la souche 12, conidiale et homothallique (équilibre des noyaux +c et -c).
 B. Mycélium de la souche 12 IV, aconidiale et hétérothallique (prépondérance des noyaux +c).
 C. Mycélium de la souche 12 IV, après le retour à l'état homothallique (retour à l'équilibre des noyaux +c et -c).

Pour conserver le symbolisme de DODGE, il est nécessaire d'admettre que chaque spore simple, chaque noyau du *N. sitophila* renferme à la fois les facteurs + et — et à la fois les facteurs C et c.

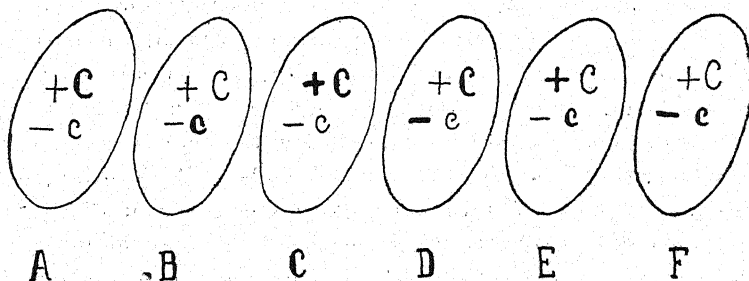


Schéma V

- A. Spore initiale d'une souche telle que 130, homothallique et conidiale.
 B. Spore initiale d'une souche telle que 138, homothallique et aconidiale.
 C, D. Spores initiales de souches telles que 25 et 31, conidiales et de signes opposés.
 E, F. Spores initiales de souches telles que 17, 18, aconidiales et de signes opposés.

Une compétition s'établit alors, non plus entre facteurs logés dans des noyaux différents mais entre des facteurs au sein du même noyau.

La prépondérance du facteur C ou c entraîne le caractère conidial ou asporique, celle du facteur + ou du facteur — oriente le mycélium vers l'un ou l'autre des états qui déterminent son comportement sexuel.

On pourra, dans l'écriture, affecter d'un caractère gras les facteurs prépondérants.

Une spore simple qui engendre un mycélium homothallique sera représentée par les fig. A et B du schéma V selon que ce mycélium sera conidial ou aconidial. Engendre-t-elle un mycélium hétérothallique, elle pourra reconnaître l'une des quatre manières d'être figurées en C, D, E, F, selon le caractère aconidial ou conidial, et le signe de la souche issu d'elle.

Nous ignorons les règles qui déterminent la prépondérance des facteurs ; elles sont assez rigoureuses sans doute pour que la disjonction dans les asques se fasse généralement en engendrant 4 noyaux affectés du symbole **C** c et 4 affectés du symbole Cc, 4 offrant les facteurs \times — et 4 offrant les facteurs + —, elles sont assez souples pour que, cette prépondérance n'étant pas absolue, les infractions au cas général puissent recevoir une explication.

Ce symbolisme, bien que dans les idées de notre temps sur le déterminisme des caractères, n'est peut-être pas d'une impérieuse nécessité ; nous l'avons employé pour montrer quelles modifications doit subir le symbolisme de DODGE pour traduire tous les faits observés ; nous l'avons exposé pour indiquer combien il serait imprudent de s'appuyer sur le symbolisme de DODGE pour en déduire, comme il nous y invite, que la constitution génétique des *Neurospora* impose la notion qu'une fusion nucléaire précède, chez eux, la formation du périthèce ; affecter les symboles Cc \times —, Cc + —, Cc + \times , Cc + —, aux noyaux des *Neurospora*, revient d'ailleurs tout simplement à substituer à la doctrine de l'unipotentiaité des mycéliums vis-à-vis du signe et de la formation des conidies la notion de leur bipotentiaité au point de vue de ces caractères.

Telle est la conclusion générale de la première partie de cette étude. Elle se trouve confirmée pour ce qui est la bipotentiaité sexuelle par de nouvelles observations dont l'exposé fait l'objet de notre deuxième partie.

En étudiant les étapes de la formation des périthèces chez les *Neurospora*, nous sommes parvenus à la notion que toutes les souches de *Neurospora* ont en puissance la possibilité de former des périthèces ; elles sont potentiellement homothalliques ; d'autre part, entre des souches hétérothalliques de *Neurospora* la fertilité nous est apparue plus grande que le permettrait la stricte applica-

tion des règles de la sexualité bipolaire, et cette observation trouve également une explication dans la notion de leur bipotentialité sexuelle.

Notons que c'est à la notion de la bipotentialité sexuelle des mycéliums hétérothalliques, qu'en se fondant sur une argumentation différente, est parvenu VANDENDRIES [35] dans les recherches

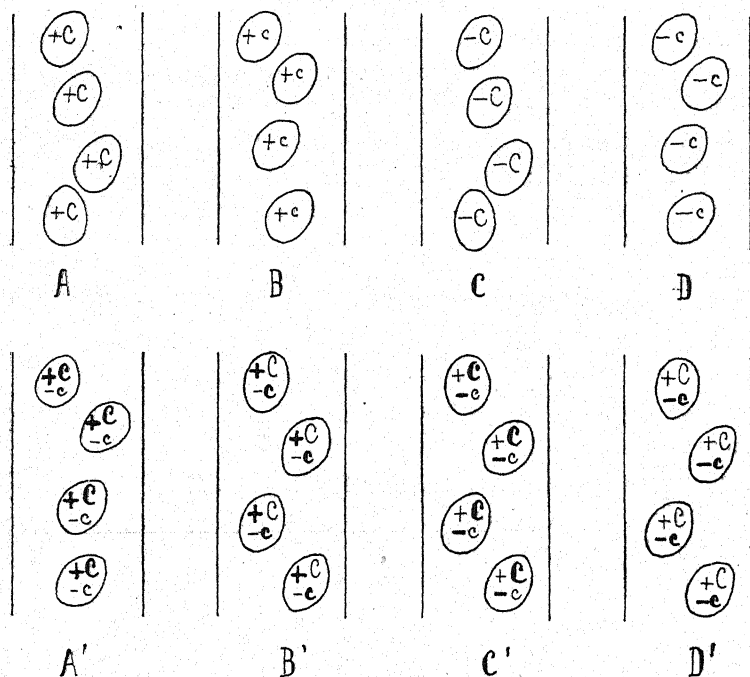


Schéma VI

A, B, C, D. Les 4 types de mycéliums hétérothalliques (au point de vue du signe et des caractères conidial et aconidial), selon DODGE.

A', B', C', D'. Les mêmes dans la théorie de la bipotentialité sexuelle et de la bipotentialité du mycélium au point de vue conidial et aconidial.

qu'il a consacrées à la sexualité des Basidiomycètes. Indiquons encore que la thèse de la bipotentialité sexuelle des Champignons supérieurs est en accord avec l'idée qui tend à se répandre, particulièrement à la suite des travaux de HARTMANN, que tous les êtres vivants, même chez les haplobiontes, sont chacun pourvus de deux sexes.

Nous voudrions, en terminant ces considérations générales,

indiquer encore que nos conclusions ne sont pas aussi profondément éloignées de celles de l'Ecole de DODGE qu'elles le paraissent à première vue. Un élève de DODGE, LINDEGREN [44], suggère que nous avons affaire à des souches spéciales, pourvues de noyaux aux potentialités génétiques différentes, « hétérocaryotiques ». Ce caractère particulier de nos souches expliquerait toutes les discordances entre les résultats de l'Ecole de DODGE et les nôtres. Revenons au symbolisme qui permet d'exprimer les manières dont DODGE et ses collaborateurs, d'une part, puis nous-mêmes concevons la constitution génétique des *Neurospora* : un même mycélium, disons-nous les uns et les autres, renferme à la fois des facteurs C et c, des facteurs + et —. Toutefois DODGE et ses élèves les répartissent dans des noyaux différents ; nous les logeons dans un même noyau, et c'est par là que nous différons (Schéma VI).

Nous différons encore en ce que nous pensons avoir entre les mains des souches normales et en ce que nous espérons que les résultats que nous venons d'exposer chez les *N. sitophila* se retrouveront chez d'autres Ascomycètes hétérothalliques. Mais il suffit que nous ayons relevé des caractères communs aux deux doctrines pour que nous caressions en outre l'espoir qu'une entente interviendra entre la doctrine que nous défendons et celle de nos confrères de l'Ecole américaine, dont nous ne cessons de suivre les recherches avec un vif intérêt.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. — EHRENBURG. — *Syzygites*, eine neue Schimmeligattung, nebst Beobachtungen über sichtbare Bewegungen in Schimmeln und Abbildungen. *Verhandlung der Gesellsch. Naturf. Freund. zu Berlin*, I, p. 98-100. 1820.
2. — STAHL (E.). — Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Flechten (Vorläufige Mitteilung). *Bot. Zeit.*, p. 177-180. 1874.
3. — STAHL (E.). — Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Flechten. Ueber die geschlechtliche Fortpflanzung der Collemaceen. Leipzig, Félix, 1877.
4. — BARY (A. de). — Entwicklungsgeschichte der Ascomyceten. Leipzig. 1863.
5. — DANGEARD (P.A.) et SAPPIN-THOUFFY. — Une pseudo-fécondation chez les Urédinées. *C.R. Ac. Sc.*, T. 116, p. 267-269, 6 fév. 1893.
6. — DANGEARD (P.A.). — La reproduction sexuelle chez les Ascomycètes. *C.R. Ac. Sc.*, T. 118, p. 1065-1066. 7 mai 1894.
7. — DANGEARD (P.A.). — La reproduction sexuelle chez les Basidiomycètes. *Le Botaniste*, série 4, p. 88-90. 1895.
8. — HARPER (R.A.). — Die Entwicklung des Peritheciums bei *Sphaerotheca Castagnei*. *Ber. d. d. bot. Ges.*, T. 13. 1895).
9. — HARPER (R.A.). — Sexual reproduction in *Pyronema confluens* and the development of ascocarp. *Ann. of Bot.*, T. 14, p. 321-400. 1900.
10. — DANGEARD (P.A.). — Recherches sur le développement du périthèce chez les Ascomycètes (2^e et 3^e parties). *Le Botaniste*. T. 10, p. 1-385, 1907.
11. — CLAUSSEN (P.). — Zur Entwicklungsgeschichte der Ascomyceten *Pyronema*. *Zeits. f. Bot.*, T. 4, p. 11-64. 1912.
12. — TANDY (G.). — The cytology of *Pyronema domesticum* (Sow.) Sacc. *Ann. of Bot.*, T. 41, p. 321-325, 1927.
13. — GWYNNE-VAUGHAN (H.C.I.) et WILLIAMSON (H.S.). — A reinvestigation of the life-history of *Pyronema confluens*. *Ann. Report of the British Assoc., Bristol Meeting*, p. 406. 1930.

14. — MOREAU (F. et Mme). — Le développement du périthèce chez quelques Ascomycètes. *Rev. gén. de Bot.*, T. 42, p. 65-98, 1930.
15. — GWYNNE-VAUGHAN (H.C.I.) et WILLIAMSON (H.S.). — Contributions to the study of *Pyronema confluens*. *Ann. of Bot.*, T. 45, p. 355-371, 1931.
16. — MOREAU (F. et Mme). — Existe-t-il une double réduction chromatique chez les Ascomycètes ? *Rev. gén. de Bot.*, T. 43, p. 465-473, 1931.
17. — RAYMOND (J.). — Les cinèses de l'asque de *Pyronema confluens*. *C.R. Ac. Sc.*, T. 197, p. 932-934, 1933.
18. — RAYMOND (J.). — Contribution à la connaissance cytologique des Ascomycètes. *Le Botaniste*, T. 26, p. 371-538, 1934.
19. — BENSAUDE (Mlle M.). — Recherches sur le cycle évolutif et la sexualité chez les Basidiomycètes. *Thèse Sciences*, Paris. 1918.
20. — KNIEP (H.). — Die Sexualität der niederen Pflanzen. *Jena, Fischer*, 1928.
21. — VANDENDRIES (R.). — La contribution belge à l'étude du problème sexuel des Champignons. *C.R. Congrès national des Sciences*, Bruxelles, 29 juin-2 juillet 1930, 1931.
22. — SHEAR (C.L.) et DODGE (B.O.). — Life histories and heterothallism of the red bread-mold fungi of the *Monilia sitophila* group. *Journ. of agric. Research.*, T. 34, p. 1019-1042, 1927.
23. — PAYEN. — Extrait d'un rapport adressé à M. le maréchal duc de Dalmatie, Ministre de la Guerre, Président du Conseil, sur une altération extraordinaire du pain de munition. *Ann. Chim. et Phys.*, (3) T. 9, p. 5-21, 1843.
24. — DODGE (B.O.). — Nuclear phenomena associated with heterothallism and homothallism in the Ascomycete *Neurospora*. *Journ. of agric. Research.*, T. 35, p. 289-305, 1927.
25. — MORUZI (Mlle C.). — Recherches cytologiques et expérimentales sur la formation des périthèces chez les Ascomycètes. *Thèse Sciences*, Paris, 1932.
26. — COLSON (Mlle B.). — The cytology and morphology of *Neurospora tetrasperma*. Dodge. *Ann. of Bot.*, T. 48, p. 211-224, 1934.
27. — MORUZI (Mlle C.). — Sur une maladie du Champignon de couche causée par un *Monilia*. *Bull. Soc. Myc. de Fr.*, T. 46, p. 143-148, 1930.
28. — BLAKESLEE (A.F.). — Sexual reproduction in the Mucorineae. *Proceed. of the Amer. Acad. of Arts and Sci.*, T. 40. p. 205-319. 1904.
29. — DODGE (B.O.). — Material for demonstrating sexuality in the Ascomycetes. *Torrey*, T. 30, p. 35-39, 1930.

30. — MOREAU (F.) et MORUZI (Mlle C.). — Recherches expérimentales sur la formation des périthèces chez les *Neurospora*. *C.R. Ac. Sc.*, T. 192, p. 1476-1487, 1931.
 31. — DODGE (B.O.). — Heterothallism and hypothetical hormones in *Neurospora*. *Bull. of the Torrey botanical Club*, T. 58, p. 517-522, 1932.
 32. — DODGE (B.O.). — Crossing hermaphroditic races of *Neurospora*. *Mycologia*, T. 24, 1932.
 33. — ARONESCO (Mlle A.). — Further studies in *Neurospora sitophila*. *Mycologia*, T. 25, p. 43-55, 1933.
 34. — ARONESCO (Mlle A.). — Further tests for hormone action in *Neurospora*. *Mycologia*, T. 26, p. 244-252, 1934.
 35. — VANDENDRIES (R.). — La conduite sexuelle des Hyménomycètes interprétée par les théories de Hartmann concernant la bisexualité et la relativité sexuelle. *Bull. Ac. Roy. de Belg., Cl. des Sc.*, 3^e série, T. 16, p. 1213-1234, 1930.
 36. — WILCOX (Mlle M.). — The sexuality and arrangement of the spores in the ascus of *Neurospora sitophila*. *Mycologia*, T. 20, p. 3-17, 1928.
 37. — DODGE (B.O.). — Breeding albinistic strains of the *Monilia* bread mold. *Mycologia*, T. 22, p. 9-38, 1930.
 38. — LINDENGREN (C.C.). — The genetics of *Neurospora*. II Segregation of the sex factors in the asci of *N. crassa*, *N. sitophila* and *N. tetrasperma*. *Bull. of the Torrey bot. Club*, T. 59, p. 119-138, 1932.
 39. — BURGEFF (H.). — Untersuchungen über Variabilität, Sexualität und Erbllichkeit bei *Phycomyces nitens* Kunze. *Flora*, T. 107, p. 259-316, 1914.
 40. — DODGE (B.O.). — Spore formation in asci with fewer than eight spores. *Mycologia*, T. 20, p. 18-21, 1928.
 41. — DODGE (B.O.). — The nature of giant spores and segregation of sex factors in *Neurospora*. *Mycologia*, T. 21, p. 222-237, 1929.
 42. — DOWDING (E.S.). — The sexuality of the normal, giant, and dwarf spores of *Pleurago anserina* (Ces.) Kuntze. *Ann. of Bot.*, T. 45, p. 1-14, 1932.
 43. — FETCH (T.). — The bread mould, *Monilia sitophila* (Mont.) Sacc. *Journ. of Bot.*, T. 59, p. 67-69, 1931.
 44. — LINDEGREN (C.C.). — The genetics of *Neurospora*. V. Self sterile bisexual heterokaryons. *Journ. of Genetics*, T. 28, p. 425-435, 1934.
-

RÉACTIONS DES FRUITS AUX BLESSURES EXPÉRIMENTALES

par M. Roger ULRICH

(Suite)

2. Cicatrisation des lésions latérales.

Seuls les phénomènes observés au niveau de l'épicarpe et du parenchyme seront étudiés dans ce paragraphe. Le comportement de l'appareil sécréteur et celui des vaisseaux seront examinés ultérieurement (§ 5 et 6).

Comme d'ordinaire, la première réaction au traumatisme est la mort de cellules de plus en plus profondes jusqu'à ce que, vers le 9^e jour, certaines se différencient dans le sens de la ligno-subérification, limitant ainsi la zone sacrifiée.

A. — *Le parenchyme sacrifié*

Les cellules anormalement exposées aux conditions extérieures par suite de l'ablation d'une partie du fruit se contractent. Le parenchyme lacuneux qui constitue essentiellement le mésocarpe a l'aspect d'un réseau formé par des cordons cellulaires ; les cellules se contractant, les lacunes situées entre les mailles deviennent de plus en plus larges. L'entrée des saprophytes, particulièrement des champignons est ainsi largement facilitée. Les cellules à oxalate, nombreuses dans le fruit jeune, résistent généralement à l'écrasement : leurs membranes semblent maintenues par les pointes des oursins. Cependant, parfois, il existe un intervalle entre la mâcle et la paroi cellulaire : un mucilage remplit peut-être cet espace. Fréquemment,

les cristaux sont englués dans une masse jaune dont il sera question plus loin. Enfin près de la blessure, on trouve des oursins libérés de leur cellule et parfois emballés dans cette même substance jaune (fig. 38).

Un seul fruit (948-2) exposé à une période de grands froids après le traumatisme n'a pas déformé ses cellules après 21 jours.

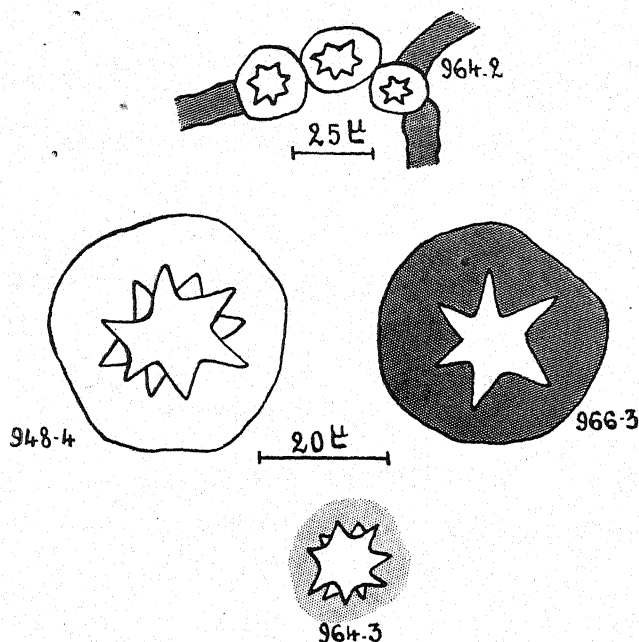


Fig. 38. — Oursins d'oxalate de calcium du parenchyme sacrifié (Lierre ; BOUIN).
 964-2 : en grisé, cordons de cellules contractées colorées par l'hématoxyline.
 964-3 : oursin arraché d'une cellule par le traumatisme.
 948-4 : une cellule à oxalate plus grossie ; 966-3 et 964-3, oursins entourés de substance jaune.

Le parenchyme sacrifié est plus épais vers l'axe du fruit qu'en surface : le mésocarpe lacuneux est bien plus vulnérable que le parenchyme compact externe (fig. 39).

Il arrive dans quelques cas que l'épiderme mort et les tissus sous-jacents déformés se rabattent en lame recouvrante protectrice (973-3).

Dans les cellules mortes le tanin est fréquent comme dans le

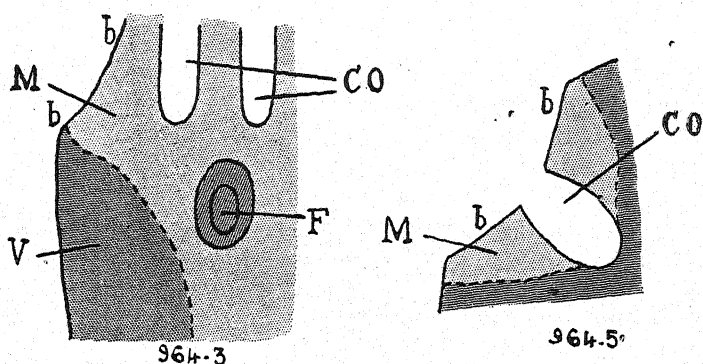


Fig. 39. — Parenchyme sacrifié (Lierre).

En grisé clair : tissus morts (*M*) ; en grisé sombre, tissus vivants (*V*). *F* : faisceau ; *CO* : cavité ovarienne ; *bb* surface de la blessure.

Le fruit de gauche est représenté en coupe longitudinale, celui de droite en coupe transversale.

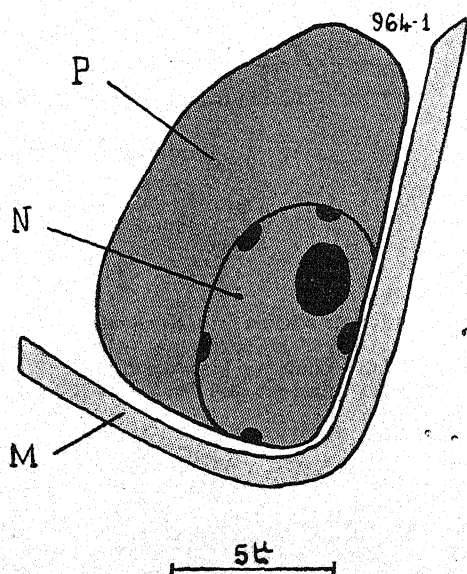


Fig. 40. — Groupement des plastes autour du noyau (Lierre ; HELLY ; hématoxyline).

P : masse formée par les chloroplastes accolés et indistincts ; *N* : noyau avec nucléole et prochromosomes ; *M* : membrane.

parenchyme normal. Les précipités dus aux fixateurs (HELLY, REGAUD) se colorent comme les débris cytoplasmiques par la safranine et l'hématoxyline, tandis que les membranes restent incolores. Parfois, dans certaines cellules, les précipités tanniques sont jaunes. Ailleurs le précipité est remplacé par une sorte de laque brunâtre. A un certain stade de la nécrobiose, le noyau paraît encore normal, mais les chloroplastes déformés sont collés en masse autour de lui (fig. 40). Plus tard le noyau devient pycnotique et le cytoplasme environnant déformé se colore comme lui par la safranine. Dans les cellules sacrifiées le cytoplasme est souvent granuleux et brun.

B. — *Formation de la lame ligno-subéreuse.*

Neuf jours après la blessure (973-1), on trouve sous les cellules mortes trois ou quatre couches de cellules dont les méats sont bou-

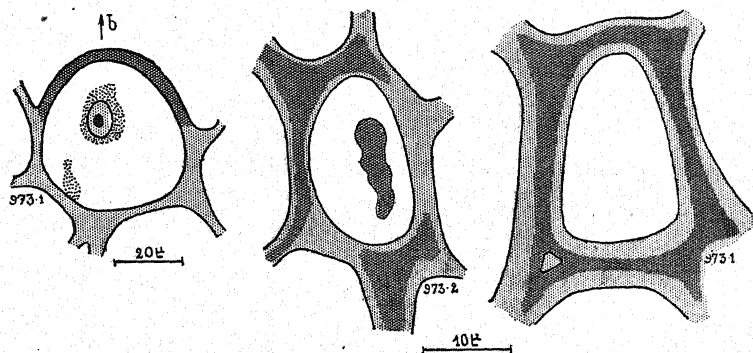


Fig. 41. — Cellules ligno-subéreuses (Lierre). A gauche, cellule partiellement lignifiée (en grisé sombre, région ayant fixé la safranine). Au milieu : fixation irrégulière de l'hématoxyline dans la membrane. A droite, région moyenne de la membrane seule colorée par la safranine.

chés par un tampon adsorbant fortement l'hématoxyline. Déjà à ce stade ces membranes fixent la safranine dans leur région moyenne surtout ; le reste est cellulosique car il s'éclaire entre nicols croisés. La coloration est localisée souvent sur une partie seulement de la surface de la cellule ; il en est de même sur les préparations colorées par l'hématoxyline (fig. 41). Ces colorations sont difficiles à interpréter ; elles doivent tenir à des variations dans la nature des élé-

ments pectiques (1). Sur matériel frais, on reconnaît dans les cicatrices évoluées de fruits jeunes (1188) ou âgés (1144) la lame subéreuse avec ses caractères habituels : plusieurs couches de cellules mortes peu déformées à paroi ligno-subérifiée (réactions caractéristiques avec phloroglucine chlorhydrique, soudan, acide sulfurique concentré, chloriodure de zinc, acide chromique à 50%, violet neutre).

Les cellules ligno-subérifiées sont parfois légèrement hypertro-

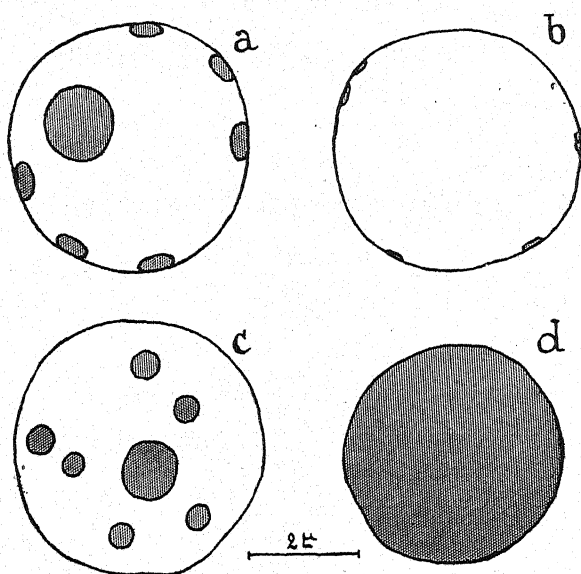


Fig. 42.— Dégénérescences nucléaires (Lierre; *a* et *b* : HELLY; *c* et *d* : BOUIN). *a* : noyau normal avec nucléole et prochromosomes périphériques (hématoxyline); *b* : régression de la chromatine (hématoxyline); *c* : chromatine en boules safraninophiles; *d* : pycnose (safranine).

phiées (994-1). Généralement le tanin a disparu du contenu cellulaire et les noyaux sont pycnotiques. Il semble que la pycnose soit précédée par l'apparition dans le noyau de boules vivement colorables. Parfois la dégénérescence nucléaire est caractérisée au contraire

(1) L'hématoxyline colore mal le bois et la pectine; elle se fixe bien sur la pectose. Le rouge de ruthénium est lui aussi beaucoup mieux adsorbé par la pectose que par la pectine.

par une perte presque totale de la faculté de fixer les colorants (fig. 42).

Ces stades de nécrobiose du noyau sont précédés dans certains cas par un déplacement de celui-ci vers une cellule morte adjacente (964-1).

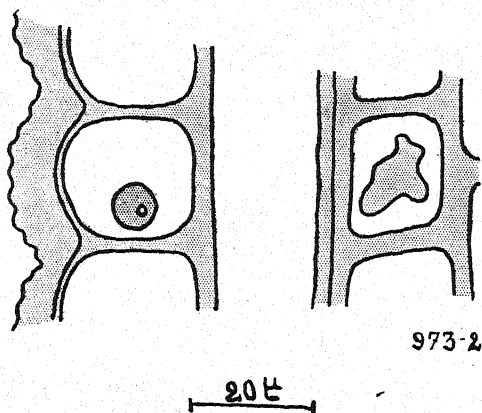
L'épiderme peut réagir comme le parenchyme au niveau de la lame ligno-subéreuse : ses membranes ne fixent plus le glychémalun mais la safranine (fig. 43). Dans cette région, l'endocarpe peut, comme l'épicarpe, se colorer en violet par la phloroglucine chlorhydrique (1188).

C. — *Croissance et division sous la lame ligno-subéreuse.*

Neuf jours après la blessure, sous la lame ligno-subéreuse, des cellules légèrement hypertrophiées renferment un gros noyau en prophase (973-1). Deux phénomènes caractéristiques de cette région se constatent déjà : hypertrophie et caryokinèse ; un troisième ne tarde pas à apparaître : c'est le gonflement des membranes accompagné de modifications de leurs éléments pectiques. Grâce à la croissance cellulaire, les lacunes tendent à disparaître ; les derniers méats qui pourraient subsister sont envahis par des verrues et par une substance paraissant visqueuse, coagulée par les fixateurs et fixant l'hématoxyline (fig. 44). Ces verrues hyalines et réfringentes sur le vivant (1188) se colorent en brun orange par la safranine et en jaunâtre par le chloroiodure de zinc (1144). Le rouge de ruthénium colore les verrues et se fixe parfois dans le parenchyme devenu compact suivant une très fine ligne rouge au milieu des membranes ; donc les composés pectiques sont en jeu dans ces modifications de la région intercellulaire. Les verrues ne sont plus visibles sur les cicatrices évoluées qu'à la limite de la région compacte et du parenchyme normal resté lacuneux (fig. 44). Vers l'extérieur, elles se sont rencontrées, bouchant les espaces intercellulaires. Dans certains cas on observe à la surface des cellules non pas des verrues mais des bandes, plus ou moins larges (973-3).

Dans le parenchyme profond normal on trouve aussi des boutons pectiques et des sortes de réseaux, mais ces formations sont moins développées et moins colorables par l'hématoxyline qu'au voisinage de la blessure.

En même temps que se réalise cette obstruction des lacunes grâce aux composés pectiques, les cellules situées sous la lame ligno-subéreuse se divisent et on peut y observer des phases de caryokinèse (973-2). Certaines ont été préalablement le siège d'un déplacement du noyau vers les tissus morts. D'autre part, toute cette zone compacte où se poursuivent des divisions est plus riche en tannoïdes que le parenchyme normal. Fréquemment les cellules-mères commençant à se cloisonner sont fortement bombées vers les tissus



973-2

Fig. 43. — Epicarpe de Lierre (BOUIN-Safranin)

A gauche, épicarpe normal ; à droite, épicarpe ligno-subérifié dont les membranes sont colorables en rouge vif par la safranine.

morts, manifestation d'une forte turgescence. Le parenchyme central du fruit peut faire saillie dans les cavités ovariennes au niveau du méristème (1188). On n'observe ni croissance ni divisions dans les cellules à oxalate de calcium. Ce composé est d'ailleurs rare dans la zone du méristème ; il disparaît probablement avant l'apparition des mitoses.

Les divisions naissent généralement dans plusieurs couches de cellules situées derrière la zone nécrosée, mais c'est l'assise la plus externe qui se divise le plus activement. Chaque cellule-mère engendre de multiples cellules-filles et s'accroît en même temps. Bientôt la formation de nouvelles cellules se localise dans une étroite région : le phéllogène. Pendant que la pile grandit, l'ancienne membrane s'étire au niveau de l'assise génératrice ; les différences d'épaisseur

sont parfois très nettes (fig. 45). D'une pile à la voisine, la croissance n'a pas toujours la même intensité et on a l'impression très nette que ces piles glissent les unes contre les autres grâce à l'enduit pectique intermédiaire.

Comme d'ordinaire, la grande majorité des membranes nouvelles sont parallèles à la lame ligno-subéreuse. Au voisinage des canaux sécréteurs entourés de cellules très plates, il peut en être autrement ainsi que le montre la fig. 45,1 ; le canal sécréteur et les

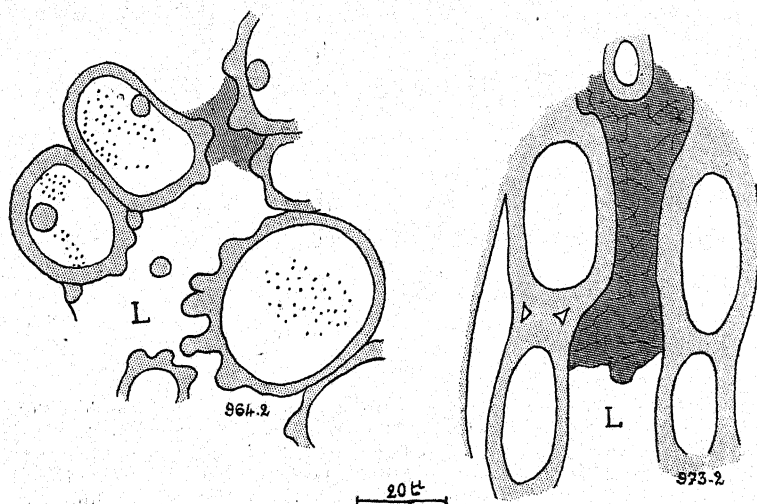


Fig. 44. — Verrues pectiques comblant les méats (Lierre-Hématoxyline)
 964-2 (HELLY) : immédiatement sous la zone compacte des cellules divisées.
 Dans les cellules, précipités tanniques.
 973-2 (BOUIN) : parenchyme sous-épidermique non loin de la blessure. L : lacunes envahies par le ciment pectique (grisé sombre).

cellules nécrosées superficielles interviennent dans l'orientation des membranes. Parfois on observe des cellules à deux noyaux (964-3).

Cette zone vivante compacte joue évidemment un rôle protecteur important. Parfois d'ailleurs, la soudure n'a pas pu se faire entre des cellules de parenchyme lacuneux trop éloignées ; on voit alors dans les tissus plus profonds non protégés des cellules déformées et mortes, la dessiccation ayant produit jusque là ses méfaits (fig. 46).

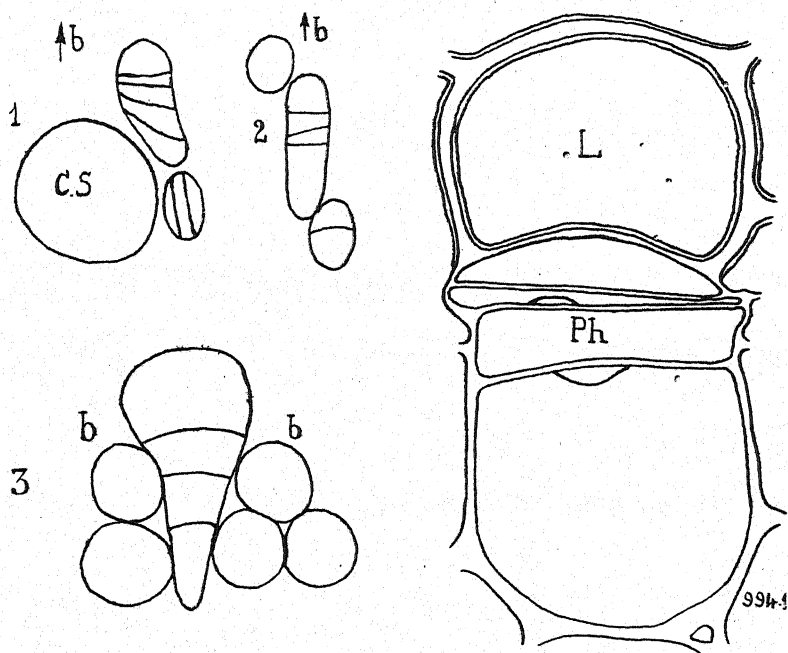


Fig. 45. — Cloisonnement des cellules-mères (Lierre). La position de la blessure est indiquée par les lettres *bb*. A droite, une cellule-mère avec liège *L* et phellogène *Ph*. A gauche, 3 schémas ; 1 : direction des cloisons au voisinage d'un canal sécréteur *CS* ; 2 : trois couches de cellules ayant réagi de façon différente ; 3 : saillie d'une cellule-mère au niveau de la surface libre *bb*.

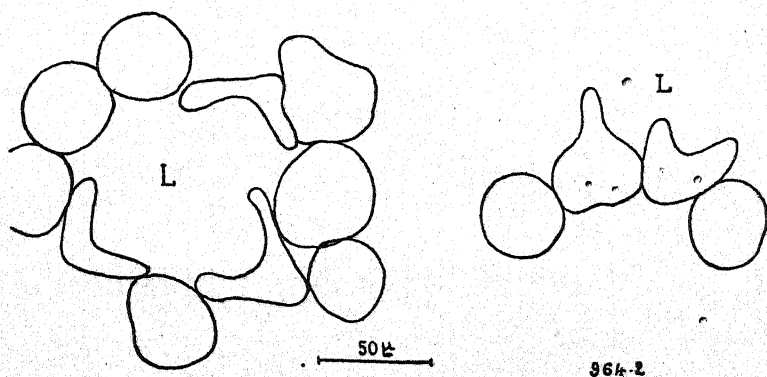


Fig. 46. — Cellules de parenchyme lacuneux déformées (Lierre ; HELLY). *L* : lacunes.

D. — *Le Liège*

Le liège est généralement très peu développé et réduit à une seule couche de cellules extérieure au phellogène. Tardivement (Ex. : 63 jours ; 1188), on peut en compter deux ou trois assises.

E. — *Déformations cuticulaires.*

Sur certains fruits, au niveau de la blessure, la cuticule a une épaisseur plus grande ou plus réduite que normalement. Dans d'au-

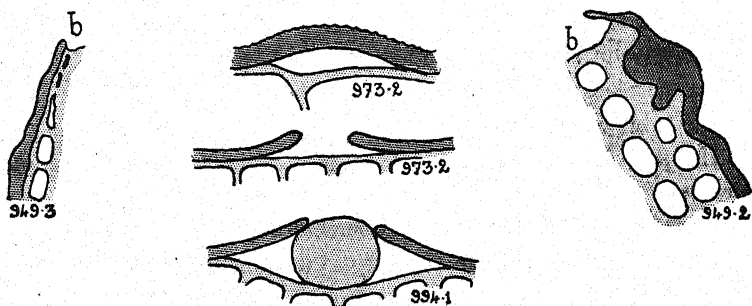


Fig. 47. — Déformations cuticulaires (Lierre).
La cuticule est en grisé sombre. Le dessin 994-1 représente un périthèce de champignon qui s'est développé dans une fissure.

tres cas, elle est rompue et des saprophytes envahissent la fissure. Ailleurs, elle est décollée de l'épicarpe. Enfin, dans la région sacrifiée, elle présente parfois des ondulations irrégulières (fig. 47).

3. *Cicatrisation des sections transversales.*

Ces blessures ont entraîné la mort des fruits sans aucune formation cicatricielle. Au voisinage de la lésion, on peut observer parfois des déformations de la cuticule (fig. 47 : 949).

4. Réactions des fruits aux piqûres profondes.

Dans cette série d'expériences, les traumatismes ont été effectués avec une aiguille à coudre ordinaire plantée à peu près à mi-hauteur, perpendiculairement à l'axe du fruit, et généralement de part en part. Les essais faits pendant la période froide (959, 960) ont été peu fructueux, le fruit réagissant peu ou pas du tout. Des cellules se déforment et meurent autour de la blessure, puis la nécrose gagne peu à peu tout le fruit. Grâce à leurs mâcles, les cellules à oxalate ne s'aplatissent pas. Dans les lacunes élargies du parenchyme s'installent des saprophytes. Les débris cytoplasmiques se trouvent tantôt au centre des cellules, tantôt accolés aux parois (différences d'adhérence). Dans certaines cellules, on peut observer des gouttes de substance jaune (960-1) et, dans les cellules mourantes, les plastes enveloppent le noyau.

Certains fruits opérés en décembre et laissés trois mois sur pied ont fini par cicatriser, mais avec un grand retard (960-4). Les réactions sont beaucoup plus intenses à l'approche du printemps et c'est sur les fruits opérés en février-mars (966) que les réactions présentent le maximum de rapidité et d'intensité.

A. — *Nécrobiose autour de la perforation.*

Les cellules mortes sont généralement peu nombreuses contrairement à ce que nous avons observé sous les larges lésions. Leur noyau est tantôt peu distinct et peu safraninophile, tantôt pycnotique (966-3). Souvent tout le contenu cellulaire contracté fixe les colorants nucléaires. Certaines cellules renferment des gouttes jaunes ou semblent même complètement transformées en cette matière (fig. 48).

B. — *Premières réactions des cellules vivantes.*

Sous le parenchyme sacrifié d'ailleurs discontinu, les cellules vivantes gonflent et s'allongent vers l'espace libre créé par la perforation ; cette hypertrophie est très caractéristique et correspond à une forte turgescence des cellules. Elle contribue à former autour de la lésion une zone extrêmement compacte.

La partie moyenne des membranes se colore fortement par l'hématoxyline. Nous retrouvons là une réaction précédemment décrite ; les composés pectiques se modifient à ce niveau et réalisent un bouchage plus hermétique des méats. Le ciment est formé par les verrues pectiques qui se sont rencontrées et soudées grâce à la croissance cellulaire. Là où la soudure n'a pas pu se faire, on voit

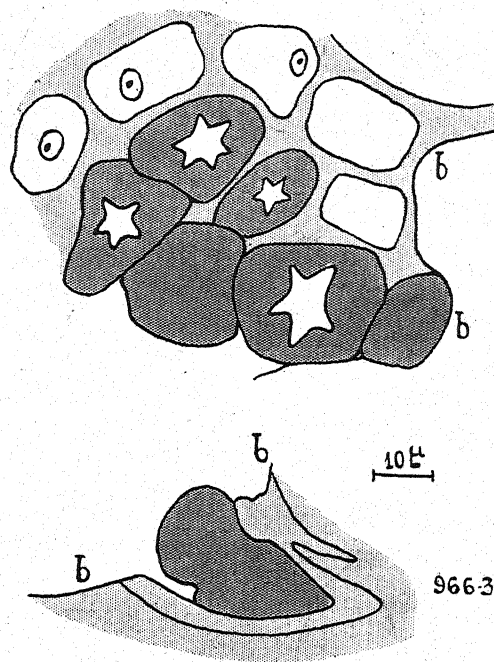


Fig. 48. — Sécration jaune (Lierre; HELLY). En grisé sombre, la substance jaune entourée, sur le dessin du bas de la figure, d'une couche de tissus morts colorés par l'hématoxyline ; bb : surface de la blessure.

encore les verrues ; elles sont très nettes également à la limite de la zone compacte et du parenchyme lacuneux normal (fig. 49). Loin de la blessure, ces verrues existent aussi mais fixent très peu les colorants, contrairement à ce qu'on observe autour de la perforation.

Hypertrophie cellulaire et changement de constitution des membranes entraînent la formation d'une région étanche à partir du parenchyme normalement lacuneux (fig. 50). Dans quelques

cas, il y subsiste des défauts ; on peut alors observer plus profondément des cellules déformées sans doute faute d'une protection suffisante contre l'évaporation (voir plus haut fig. 46).

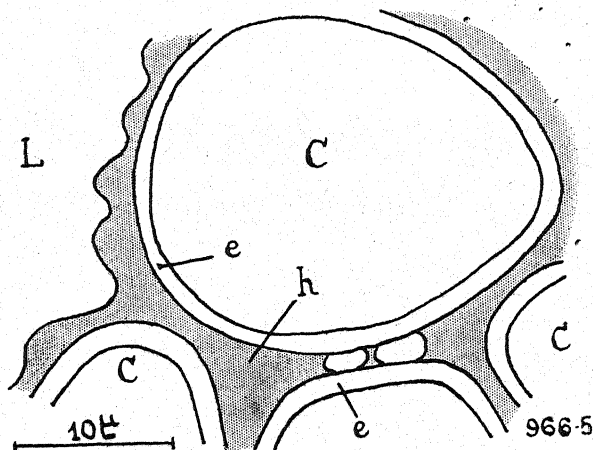


Fig. 49. — Verrues pectiques immédiatement sous le méristème. (Lierre ; Bouin-hématoxyline).

C : cavité cellulaire. L : lacune. Membranes colorées partiellement par l'érythrosine (e) et par l'hématoxyline (h).

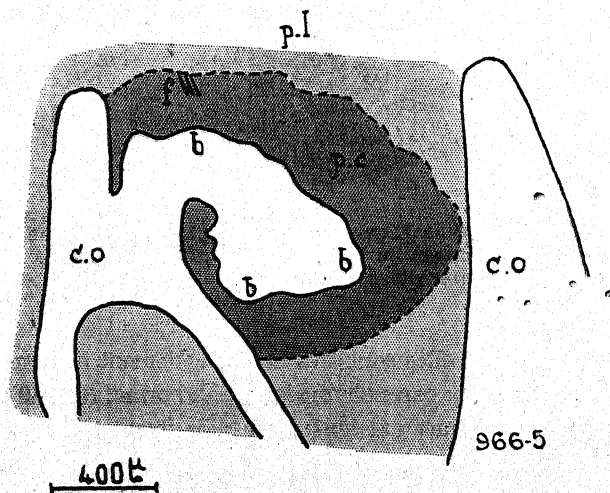


Fig. 50. — Parenchyme secondairement compact (en grisé sombre) autour d'une perforation (Lierre). co : cavité ovarienne ; f : faisceau vasculaire ; pl : parenchyme lacuneux ; pe : parenchyme compact ; bb : surface de la blessure.

Dans ces cellules vivantes, les plus proches de la zone sacrifiée, le noyau est fréquemment accolé à la paroi la plus voisine de la lésion (fig. 51).

Cette zone secondairement compacte est plus riche en tanin que le parenchyme normal.

C. — Cellules ligno-subérifiées.

Les cellules vivantes qui viennent d'être étudiées se comportent plus tard de deux façons différentes ; certaines grandissent simple-

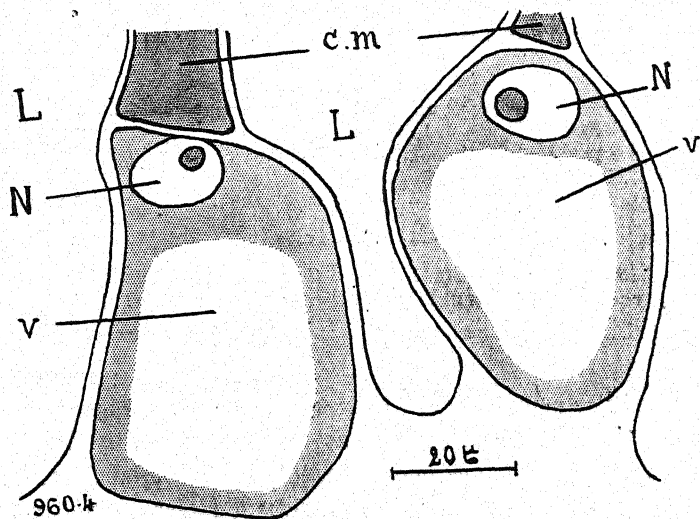


Fig. 51. — Traumatotactisme des noyaux (Lierre ; HELLY ; Safranine). cm : cellules mortes à contenu vivement coloré en rouge. N : noyau avec nucléole ; v : vacuole ; L : lacunes.

ment, d'autres se divisent en s'accroissant. Celles de la première catégorie, disposées au voisinage de la lésion, lignifient généralement leurs parois, puis meurent. Cette différenciation apparaît avec netteté sur les vieilles cicatrices (966-5). Les membranes fixent alors énergiquement la safranine et l'hématoxyline dans leur partie moyenne ; il subsiste un fin liseré incolore à l'extérieur et à l'intérieur. Le noyau est pycnotique, et parfois on peut saisir un stade antérieur de son évolution correspondant à la présence de plusieurs

sphères safraninophiles à l'intérieur de la membrane nucléaire (fig. 42, c).

D. — *Divisions cellulaires.*

Sous la région mortifiée formée par le parenchyme sacrifié et les cellules ligno-subéreuses, région très peu épaisse et même souvent discontinue, les cellules du parenchyme secondairement compact se divisent. Une première cloison apparaît, à peu près parallèle à la surface de la blessure. Cette membrane est tantôt plane, tantôt bombée vers la piqûre ; très souvent la cellule-fille la plus externe est la plus petite. D'autres cloisons apparaissent extérieurement à la

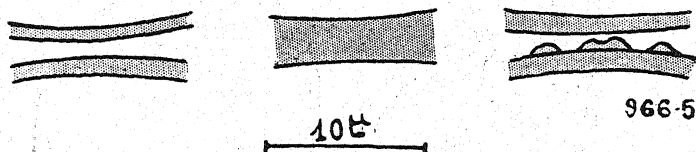


Fig. 52. — Région intercellulaire (Lierre-Bouvin-Hématoxyline).
A gauche, méat ; au milieu, soudure des membranes ; à droite, verrues pectiques.

première et on peut observer diverses phases de mitoses avec de très petits chromosomes, ou de gros noyaux à nucléole hypertrophié.

Ainsi se forment des piles de cellules-filles toujours fortement bombées vers les tissus morts. Les cellules à oxalate restent petites et indivises et contrastent nettement par ces caractères avec leurs voisines. Les piles de cellules sont souvent étroitement accolées, mais parfois on peut apercevoir quelques verrues dans leur intervalle. Cette zone mitoyenne semble visqueuse et permet certainement une croissance glissante des cellules-mères (fig. 52). Ce glissement probable favorise le comblement des lacunes et explique les irrégularités observées parfois dans la direction des cloisons nouvelles.

La zone de division contourne les canaux sécréteurs situés sur son trajet.

E. — *Le Liège.*

La cellule la plus externe de chaque pile issue d'une cellule-mère meurt après avoir lignifié et subérifié sa membrane. Je n'ai jamais vu le liège prendre un plus grand développement.

5. Comportement des vaisseaux ligneux au voisinage des lésions.

Les vaisseaux de Lierre sont assez difficiles à étudier à cause de leur faible diamètre. Au voisinage de la blessure, quelle que soit sa nature, les uns sont béants, d'autres sont bouchés. Dans ce dernier

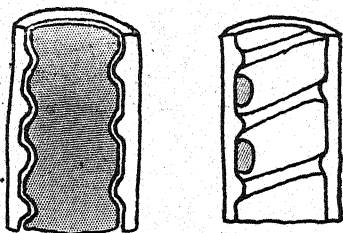


Fig. 53. — Obstruction de vaisseaux spirales (Lierre; HELLY) (995; 966-1).

cas, l'obstruction est réalisée par des saprophytes, par la sécrétion jaune issue de canaux sécréteurs ouverts ou enfin par une substance vivement colorée par la safranine et l'hématoxyline et c'est là le mode le plus fréquent.

Le bouchon est situé soit à l'orifice du vaisseau, soit plus profondément. Dans un même faisceau un vaisseau peut être bouché alors que les voisins sont restés béants. Le remplissage, lorsqu'il est complet, moule la cavité du vaisseau. Il est quelquefois partiel et réduit, dans certains cas, à des masses saillantes alternant avec les protubérances de la spirale lignifiée (fig. 53).

L'analogie d'affinité pour les colorants entre ce contenu des vaisseaux et celui des cellules mortes est d'autant plus frappante que souvent le vaisseau voisine avec ces dernières.

Parfois, en s'éloignant du bouchon compact, on passe en pro-

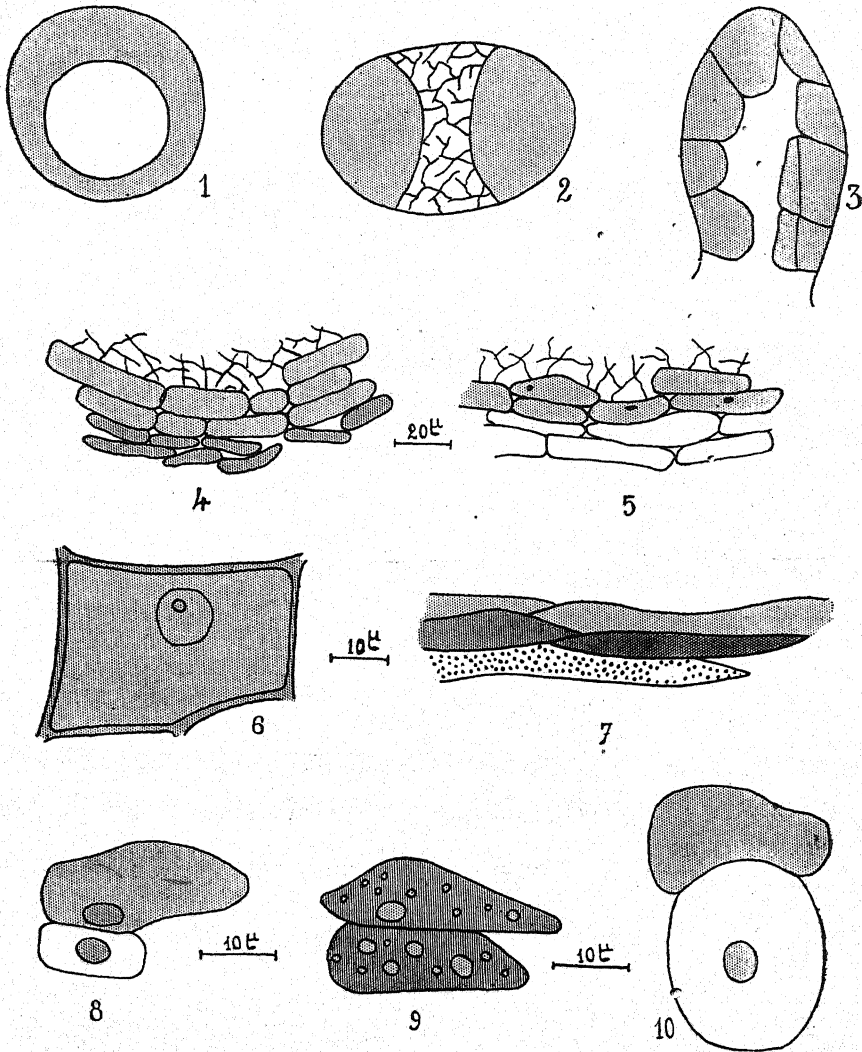


Fig. 54. — Tissus sécréteurs voisins de la blessure (Lierpe).

1 : contenu homogène d'un canal sécréteur (HELLY-hématoxyline).

2 : réseau grisâtre entre deux masses jaunes (HELLY-hématoxyline.)

3 : sécrétion fragmentée (HELLY-hématoxyline).

Cellules bordant les canaux sécréteurs (HELLY) : 4 : coloration par la safranine : le grisé clair correspond à la substance jaune et le grisé sombre aux éléments safraninophiles ; 5 : coloration par l'hématoxyline : sécrétion jaune représentée en grisé.

Cellules en cours de dégénérescence (de 6 à 10) : substance jaune en grisé clair : 6 : noyau reconnaissable (HELLY-safranine). 7 : passage du précipité tannique au contenu mort safraninophile puis à la substance jaune (REGAUD-safranine) ; 8-9-10 : HELLY-safranine.

Pour les dessins 4, 5, 7, 8 et 10, le centre du canal sécréteur serait situé vers le haut de la figure.

fondeur à un contenu granuleux rappelant un précipité tanoïdique et colorable en violacé par la safranine (966-1).

Au voisinage des lésions naturelles dues à la chute du périanthe, les vaisseaux sont bouchés de la même façon.

6. Modifications des canaux sécréteurs au voisinage des blessures.

TISON [230] a étudié la cicatrisation des canaux sécréteurs du Lierre : il a observé qu'il ne s'y forme pas de thylles (p. 182), ce que j'ai pu vérifier.

Très souvent les canaux voisins des blessures renferment une substance jaune insoluble dans l'alcool puisqu'elle résiste aux techniques histologiques. Le fixateur de BOUIN détruit, au moins en partie, cette sécrétion tandis que le mélange de HELLY la conserve. Ce produit se rencontre rarement dans des canaux éloignés de la blessure. Le contenu jaune est tantôt homogène, tantôt morcelé en masses évoquant des cellules dégénérées. C'est la deuxième disposition qui se présente le plus fréquemment. Dans le premier cas, la couche jaune peut être plus épaisse vers la blessure (fig. 54: 1, 2 et 3).

La sécrétion jaune semble bien dériver de cellules dégénérées. La disposition et la dimension des éléments qui la constituent rappellent celles des cellules environnantes. Parfois on retrouve dans les masses jaunes des traces de noyau fixant la safranine (fig. 54, 8). Enfin on a l'impression de passer progressivement par endroits du contenu granuleux (précipité tanoïdique) des cellules normales au contenu homogène et safraninophile des cellules mortes, puis à la substance jaune (fig. 54, 7). Dans certains cas, on voit dans le contenu cellulaire rouge des bulles jaunes (fig. 54, 9). D'ailleurs, la sécrétion jaune présente une faible affinité pour la safranine, mais le colorant est généralement entraîné au cours de la régression acide. Fréquemment on peut constater un rapport entre les précipités de tanoïdes et les bulles jaunes ; les cellules de l'épicarpe voisines de la blessure peuvent renfermer des sphères de cette couleur : or ces cellules sont normalement riches en tanin. Nous avons déjà vu précédemment qu'on passe insensiblement, dans certains cas, du précipité phénolique à la substance jaune.

Il est important pour comprendre en quoi consiste ce produit, de

le rapprocher du contenu de certaines cellules du parenchyme sacrifié éloignées des poches sécrétrices. Il en a déjà été question. Fréquemment les mâcles d'oxalate sont engluées dans la sécrétion. Au voisinage des canaux sécréteurs, il faut examiner la substance jaune des cellules mortes avec soin : car si elle provenait, des canaux ouverts par la blessure, elle pourrait bien consister simplement en sécrétion normale altérée et privée de ses constituants volatils par séjour à l'air.

Cette substance qui remplit certaines cellules a déjà été observée. WIGAND a trouvé ([252], p.167) dans la gomme-résine de Lierre, des stades de dégénérescence des cellules en substance jaune (fig. 11, pl. 7 de son mémoire).

L'insolubilité dans l'alcool laisse supposer qu'il ne s'agit pas d'une résine ; ce produit de dégénérescence répond assez bien à la description suivante empruntée à TSCHIRCH : le contenu cellulaire jaune insoluble dans l'alcool, parfois rencontré au voisinage des blessures est de la « Schutzgummi » identique à celle qui bouche les éléments vasculaires ([232], p. 1212). De nouvelles observations chimiques sur cette substance sont indispensables pour apporter plus de précisions.

CHAPITRE VII

RECHERCHES SUR LA GROSEILLE A MAQUEREAU

(*Ribes Grossularia* L.)

1. Le fruit normal.

La baie de *Ribes Grossularia* a été étudiée par GARCIN ([67], p. 294) et surtout par VERTES [238] qui a figuré, dans son mémoire, des coupes de fruits de 2 et 18 mm. de diamètre.

On peut distinguer, de l'extérieur vers l'intérieur, les tissus suivants :

1° *Epicarpe* dépourvu de stomates et comportant des poils longs et effilés décrits par WINTON [256] et MOELLER-GRIEBEL ([158], fig. 388) ;

2° *Région sous-épidermique* formée de petites cellules toutes semblables ;

3° *Parenchyme à deux sortes de cellules* de diamètre très différent : 40 à 60 μ pour les petites, 240 à 400 μ pour les grandes (1). Ce tissu forme la plus grande partie du mésocarpe. Les grandes cellules renferment une vacuole limitée par une très mince couche de cytoplasme ; celui-ci est plus développé dans les petites cellules. Le suc cellulaire a une réaction nettement acide dans le fruit vert ; NIE-THAMMER ([174], p. 465) y a observé en quantité importante les acides oxalique et succinique et, en moins grande abondance : malique et citrique. Les petites cellules des jeunes fruits renferment des chloroplastes et leur cytoplasme est ponctué, après traitement par l'AP Sudan, de fines gouttes colorées en rouge ;

(1) Ces dimensions sont de l'ordre de celles indiquées par VERTES [238].

4° *Endocarpe* formé de cellules à parois minces étirées tangentiellement.

Les phénols sont abondants; j'ai obtenu, surtout avec la caféine, des précipités denses dans les grandes cellules du mésocarpe. Le réactif de COURTONNE y provoque une précipitation en granulations abondantes et brunes. Le bichromate de potasse fait apparaître des précipités bruns. Après action du chlorure ferrique, c'est surtout dans l'épicarpe et le parenchyme sous-épidermique qu'on observe des contenus cellulaires noirs (1). Nous pouvons conclure de ces observations que les tanoïdes sont abondants. WINCKEL [255] les a étudiés particulièrement; il a observé par exemple leur réaction énergique au contact de la vanilline chlorhydrique. Pour NIETHAMMER [174], il s'agirait de phloroglucotannoïdes capables, après la maturation du fruit, de former des « inclusions ». Ce dernier auteur signale en outre la présence de phloroglucine dans le fruit jeune [174] et l'existence de flavones dans l'épicarpe [177]. La réaction indiquée plus haut en présence du réactif de COURTONNE me laisse supposer, d'après les travaux de GUILLIERMOND ([83], p. 61) que les composés oxyflavoniques sont présents aussi dans le mésocarpe. Le mélange de BRÆMER ne précipite pas toujours au contact du suc cellulaire, mais d'après MOLISCH [162] cette réaction peut être empêchée par une forte acidité du milieu.

La liqueur de FEHLING est réduite rapidement par les coupes de fruits même verts; ceux-ci renferment peut-être déjà des sucres.

L'oxalate de calcium forme des mâcles en oursins abondantes dans le fruit jeune uniquement vers l'intérieur du mésocarpe (GARMS [68], p. 502); plus tard, ce composé disparaît tandis que les « inclusions » et l'acétaldéhyde augmentent (NIETHAMMER [174]).

L'évolution des composés pectiques a été étudiée sur la Groseille par ROSENBERG-HEIN ([204], p. 33); l'abondance de ces produits a fait choisir ce fruit comme matériel d'étude par de nombreux chimistes (v. VAN WISSELINGH [261], p. 65).

(à suivre)

(1) LAMPÉ [126] a indiqué qu'en règle générale, les tanoïdes abondent dans l'épicarpe des baies.

LE MÉTABOLISME DU SUCRE

DANS LA FERMENTATION ALCOLIQUE

par M. H. COLIN

Les intermédiaires entre le sucre et l'alcool ne sont pas faciles à saisir. Pour y parvenir, on a recours à divers artifices dont les deux principaux consistent à capter les produits au fur et à mesure de leur formation, par des réactifs appropriés, ou à suspendre à point nommé, par un antiseptique convenable, le cours des transmutations. Les préparations diastasiques, extraits et poudres de levure, se prêtent mieux que la levure vivante à ces expériences ; la plupart des résultats que nous allons exposer ont été obtenus dans ces conditions et ne concernent, par conséquent, que la fermentation *in vitro*. On ne saurait les transposer tels quels à la levure vivante que s'il est démontré que les réactifs utilisés se bornent à ralentir la succession des phénomènes sans en dévier le cours.

La théorie de la formation de l'alcool par réduction, c'est-à-dire par hydrogénation de l'acétaldéhyde, énoncée jadis par SCHÜTZENBERGER (1), tend de plus en plus à s'imposer. L'obtention de quantités massives d'aldéhyde lorsqu'on opère en présence de sulfite qui s'empare du produit dès qu'il prend naissance, la façon dont l'aldéhyde abrège la période d'incubation fermentaire, l'élaboration d'acide acétique en même temps que d'alcool en milieu alcalin, autant de raisons, aussi fortes les unes que les autres, d'admettre que l'alcool éthylique procède de l'aldéhyde.

1) SCHUTZENBERGER et DESTREM, C. R., 1879, 88, 593.

L'acide pyruvique. — La genèse de l'acétaldéhyde à partir de l'acide pyruvique, $\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{COOH}$, ne saurait faire la moindre difficulté. Cet acide est facilement décomposé en CO_2 et $\text{CH}_3 - \text{CHO}$ sous l'action d'un ferment très répandu, la *carboxylase*; il fermente à la perfection; FERNBACH et SCHOEN (1) l'ont isolé, à l'état de pyruvate de chaux, des moûts sucrés en les additionnant de calcaire.

Le méthyl-glyoxal. — Tout se ramène donc à expliquer la formation de l'acide pyruvique aux dépens du sucre. Il n'en vient pas directement, la seule comparaison des formules ($\text{C}^3\text{H}^{12}\text{O}^6$, $\text{C}^3\text{H}^4\text{O}^3$) suffit à s'en convaincre. L'intermédiaire ne peut être qu'une autre chaîne en C^3 ; il y a belle date que FISCHER a fait observer que la condition nécessaire pour qu'un sucre soit fermentescible est qu'il renferme un nombre d'atomes de C multiple de 3.

BAEYER avait pensé à l'acide lactique dont la formule centésimale $\text{C}^3\text{H}^6\text{O}^3$ est celle d'un hydrate de carbone. L'idée dut être abandonnée faute de références expérimentales; il y a loin d'un sucre à l'acide lactique.

Jusqu'à ces derniers temps, on considérait le méthyl-glyoxal, autrement dit l'aldéhyde pyruvique, $\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{CHO}$, comme le précurseur immédiat de l'acide pyruvique.

Cependant, de l'aldéhyde ou de l'acide pyruvique au sucre, la distance est à peu près la même. De plus, le méthyl-glyoxal ne fermente pas et il n'avait été mis en évidence jusqu'alors, dans les organismes, qu'en un petit nombre de cas, surtout dans les fermentations bactériennes (FERNBACH (2), AUBEL (3)). Ce n'est qu'en des conditions spéciales, en l'absence de coferment, que NEUBERG a observé récemment sa formation à partir du glucose sous l'action des extraits de levure.

Qu'importe, disait-on, que le méthyl-glyoxal, en l'état où nous le manipulons, ne fermente pas; ce n'est pas nécessairement sous cette forme banale qu'il prend naissance au cours des transformations du sucre. D'ailleurs, un produit qui, normalement, est utilisé au fur et à mesure de son élaboration sans jamais

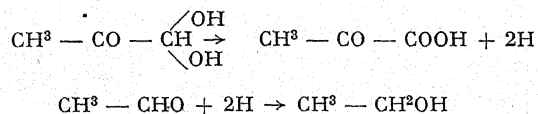
(1) FERNBACH et SCHOEN, *C.R.*, 1913, 157, 1478; 1914, 158, 1719; 1920, 170, 764.

(2) FERNBACH, *C.R.*, 1910, 151, 1004.

(3) AUBEL, *Thèse*, Paris, 1921.

s'accumuler dans le milieu risqué, le plus souvent, introduit en masse, de fausser le mécanisme des transformations.

On passait sur toutes les difficultés tant il paraissait impossible de se priver du méthyl-glyoxal. Il était à la fois le précurseur de l'acide pyruvique et le bailleur d'hydrogène pour la réduction en alcool de l'aldéhyde éthylique :



La théorie y trouvait son compte aussi bien que le goût de faire jouer en toute circonstance le mécanisme de formation des acides par déshydrogénation des hydrates d'aldéhyde.

Rien n'empêchait, croyait-on, d'admettre entre le sucre et le méthyl-glyoxal un produit transitoire, la dioxyacétone, l'aldéhyde glycérique ou le glycérose, mélange de l'une et de l'autre. Malheureusement, il n'est pas facile de passer d'un triose au méthyl-glyoxal.

L'acide phosphoglycérique. — Les choses en étaient là lorsque NILSSON (1) découvrit ce que voici. Faisant agir de la levure desséchée sur le sucre ou l'hexose-diphosphate, en présence de fluorure, il obtint non pas du méthyl-glyoxal mais un mélange équimoléculaire de phosphoglycérol et d'acide phosphoglycérique, exactement comme dans la glycogénolyse musculaire.

Il en conclut que le méthyl-glyoxal n'a rien à voir dans le cycle des réactions fermentaires ; il ne se forme qu'accidentellement, par voie purement chimique, c'est-à-dire par décomposition spontanée du phosphoglyceraldéhyde, très labile comme on sait. Aussi le rencontre-t-on même dans les milieux préalablement portés à l'ébullition.

Il n'y a rien à objecter contre cette nouvelle manière de voir s'il est vrai que la présence de fluorure ne fait qu'arrêter en un point la série des transformations du sucre sans en altérer le sens.

Dans les conditions normales, l'acide phosphoglycérique se convertit très rapidement en acide pyruvique, c'est pourquoi il

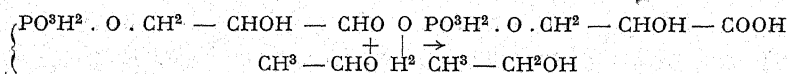
(1) NILSSON, *Arkiv för Kemi...* etc. 1930, 10, 121 ; *Biochem. Zs.*, 1933, 258, 198.

passé inaperçu. Il fermente, bien entendu, de même que son précurseur le phosphoglyceraldéhyde.

La série des transmutations que subit le glucose lors de la fermentation alcoolique est vraisemblablement la suivante : glucose, aldéhyde glycérique, acide glycérique, acide pyruvique, tous ces corps, nous le verrons plus loin, à l'état d'éthers phosphoriques. La saponification de l'éther phosphopyruvique met en liberté l'acide pyruvique qui se transforme en CO^2 et aldéhyde éthylique.

Le monoiodacétate, autre antiseptique précieux dans ces sortes de recherches, arrête lui aussi la fermentation alcoolique, aussi bien que la glycogénolyse, mais d'une autre manière que le fluorure. Il ne gêne pas la conversion de l'acide glycérique en acide pyruvique, mais s'oppose à sa formation en empêchant radicalement la dismutation du terme antérieur, l'aldéhyde glycérique. Ainsi, les réactions fermentaires que n'entrave pas le fluorure sont arrêtées par le monoiodacétate et vice-versa. C'est peut-être l'indice que ces antiseptiques n'altèrent pas la physionomie du métabolisme du sucre et ne font que l'enrayer en un point déterminé, différent pour chacun d'eux.

Reste à voir comment s'effectue la réduction de l'acétaldéhyde en alcool éthylique. Rien n'était plus facile naguère, l'hydrate de méthyl-glyoxal livrant l'hydrogène nécessaire en même temps qu'il se transformait en acide pyruvique. Désormais, il faut se reporter plus en amont, jusqu'au phosphoglyceraldéhyde. C'est à ce point du cycle fermentaire que, par dismutation, l'éthanal est converti en alcool, tandis que le phosphoglycérol passe à l'état d'acide phosphoglycérique.



C'est la raison pour laquelle, en présence d'acétaldéhyde, la fermentation n'est plus arrêtée par addition de fluorure. Au lieu de porter sur le phosphoglyceraldéhyde uniquement, la dismutation s'effectue entre ce dernier et l'aldéhyde acétique. Il se fait de l'alcool et de l'acide phosphoglycérique conformément à l'équation précédente et cela, tant qu'il y a de l'acétaldéhyde. Bien entendu, l'acide phosphoglycérique ne subit pas de transformation ultérieure en acide phosphopyruvique, le fluorure empêchant cette réaction.

On comprend bien de la sorte que l'addition d'aldéhyde éthylique à un moût sucré abrège à ce point la période d'induction, c'est-à-dire le temps qui s'écoule normalement entre l'ensemencement et le dégagement des premières bulles de CO_2 . Lorsqu'on laisse la fermentation s'amorcer d'elle-même dans les extraits de levure, il faut du temps pour que se forme le minimum indispensable d'aldéhyde acétique.

Durant cette période d'incubation, le phosphoglyceraldéhyde est dismuté en l'acide et l'alcool correspondants (1); l'acide phosphoglycérique suit son destin et se transforme, par l'intermédiaire de l'acide pyruvique, en $\text{CH}_3 - \text{CHO}$ et CO_2 , le phosphoglycérol, au contraire, reste à l'écart du cycle fermentaire; saponifié par l'estérase de la levure ou simplement déphosphorylé par l'acide adénylique, il donne naissance au glycérol que l'on trouve dans les moûts fermentés et qu'on ne devrait y rencontrer qu'à faible dose, si la théorie est exacte, lorsque la fermentation a été largement amorcée par l'aldéhyde éthylique.

Autres formes typiques de fermentation. — Ce qui précède se rapporte à la fermentation telle qu'on l'observe dans les conditions habituelles. Si l'on modifie l'ambiance, le résultat n'est plus le même.

En présence de sulfite, notamment, l'aldéhyde éthylique est insolubilisé au fur et à mesure de sa production; le rendement en aldéhyde s'en trouve considérablement augmenté (2); de plus, il se forme du glycérol en abondance, ce dont on a tiré parti pendant la guerre.

NEUBERG (3) a donné de ces faits l'interprétation suivante. L'acétaldéhyde qui, dans une fermentation normale, est transformé

(1) Tous ces corps appartiennent à la série I :

3 — Phosphoglycérol $\text{PO}^3\text{H}^2.\text{O}.\text{CH}^2 - \text{CHOH} - \text{CH}^2\text{OH}$

3 — Phosphoglycéral $\text{PO}^3\text{H}^2.\text{O}.\text{CH}^2 - \text{CHOH} - \text{CHO}$

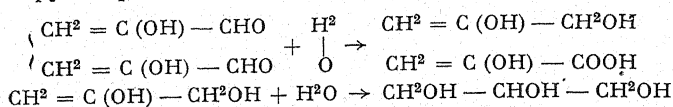
3 — Phosphoglycéroïque $\text{PO}^3\text{H}^2.\text{O}.\text{CH}^2 - \text{CHOH} - \text{COOH}$.

Les isomères 2 ont la fonction éther phosphorique sur le deuxième atome de carbone. C'est un mélange équilibré de ces deux formes que l'on rencontre dans les moûts en fermentation.

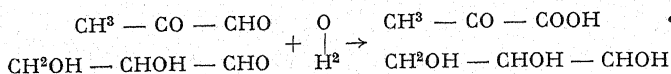
(2) Le fait est bien connu en distillerie de mélasse. Les produits venant des sucreries où l'on abuse de la sulfitation au cours de l'épuration des jus sucrés donnent moins d'alcool et plus d'aldéhyde. Au début, la levure réagit contre l'excès de sulfite et il se dégage de l'hydrogène sulfuré en abondance, mais bientôt elle s'acclimata et le rendement en aldéhyde ne fait qu'augmenter d'un jour à l'autre. Force est de changer de levain au bout de quelques jours.

(3) NEUBERT et REINFURTH, *Biochem. Zs*, 1918, 83, 365.

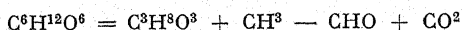
en alcool échappe, en présence de sulfite, à la réduction et c'est un corps en C^3 , formé antérieurement, qui est hydrogéné à sa place. Quel est ce corps ? NEUBERG pense qu'il s'agit du méthyl-glyoxal. Par dismutation de la forme oenolique, il se ferait du glycérol et de l'acide pyruvique :



A moins que la dismutation ne porte à la fois sur le méthyl-glyoxal et l'aldéhyde glycérique :



Ces explications sont périmées s'il est vrai que le méthyl-glyoxal n'ait plus sa place désormais parmi les produits du métabolisme. Ainsi que PARNAS (1) en a fait la remarque, ce mode de fermentation, en milieu sulfité ne diffère pas essentiellement de celui qui caractérise la période d'induction dans le suc de levure additionné de glucose et de phosphate. Dans les deux cas, l'acétaldéhyde manque au point de départ ; l'équation résultante est la même :



Or, point n'est besoin de faire intervenir le méthyl-glyoxal pour en arriver là, on y va tout droit par les réactions décrites précédemment.

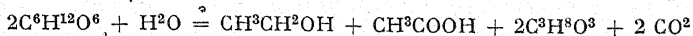
Il n'en faudrait pas conclure, d'ailleurs, que la totalité du sucre est transformée d'après cette équation et qu'il ne se fait pas trace d'alcool. En réalité, le complexe aldéhydo-sulfitique se décompose en partie et l'aldéhyde libéré est normalement converti en alcool.

Tous les sucres fermentescibles se comportent de la même façon en présence de sulfite.

NEUBERG a indiqué un autre moyen pour capter l'aldéhyde en le combinant à la diméthylhydrorésorcine ; le produit de condensation est insoluble mais le réactif est toxique, ce qui fait qu'avec la levure vivante les rendements en aldéhyde sont beaucoup moins élevés qu'en présence de sulfite.

(1) PARNAS, *Biochem.* 4, 1935, 281, 170.

L'alcalinité provoque, elle aussi, une déviation notable du cours normal de la fermentation. Il se fait alors, à côté de l'alcool, de l'acide acétique et de la glycérine dans les proportions indiquées par l'équation ci-dessous (1) :



Les Etats-Unis ont eu recours à ce procédé pendant la guerre (Eoff (2)) pour s'approvisionner en glycérine.

Ici encore, on a tenté d'une interprétation qui fait intervenir le méthyl-glyoxal. Celui-ci, à la faveur de l'alcalinité, donnerait, par dismutation, de la glycérine et de l'acide pyruvique qui se décomposerait ensuite comme à l'ordinaire, en CO^2 et $\text{CH}^3 - \text{CHO}$; puis l'acétaldéhyde subirait à son tour la dismutation. On aurait bien ainsi, par molécule de sucre, 1CO^2 , $1\text{C}^3\text{H}^3\text{O}^3$, $\frac{1}{2} \text{CH}^3 - \text{COOH}$, $\frac{1}{2} \text{CH}^3 - \text{CH}^2\text{OH}$.

Il est beaucoup plus simple de dire qu'en milieu alcalin l'aldéhyde éthylique, dismuté sur lui-même au fur et à mesure de sa formation, ne peut plus se porter au-devant du glycéraldéhyde qui alors se transforme en l'alcool et l'acide correspondants ; les choses en restent là pour le glycérol tandis que l'acide glycérique suit le cours de ses transformations habituelles.

L'alcalinité peut provenir des corps les plus divers, organiques ou minéraux. C'est donc bien la réaction du milieu qui importe. Il s'en faut, d'ailleurs, que les différentes sortes de levures s'accommodent des mêmes doses d'alcalinité ; certaines, comme l'a montré EULER (3), sont paralysées à pH 8,0 — 8,5, d'autres travaillent bien dans ces conditions. PASTEUR (4) n'avait pas été sans remarquer que la levure se montre plus active en liqueur neutre qu'en milieu acide et J.B. DUMAS affirmait qu'elle peut supporter une assez forte alcalinité. Si nous regardons comme normale la fermentation en liqueur acide, c'est en raison du rendement en alcool et de l'absence des infections bactériennes que favorise l'alcalinité.

(1) NEUBERT et REINFURTH, *Biochem. Zs*, 1920, 106, 281.

(2) EOFF, LINDER et BAYER, *J. Eug. Chem.*, 1919, 96, 175.

(3) EULER, *Z. phys. Chim.*, 1925, 144, 137.

(4) PASTEUR, *Ann. Chim. Phys.*, 1858, 52, 404.

Ces trois sortes de fermentation ne sauraient être séparées de façon absolument rigoureuse ; dans la pratique, elles se superposent, mais l'une ou l'autre prédomine suivant les conditions(1). Étant donnée l'affinité des aldéhydes pour les sels de l'acide sulfureux, c'est la seconde forme qui l'emporte toujours sur les autres dès qu'on sulfite le milieu.

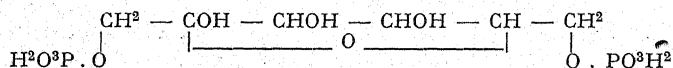
* * *

La phosphorylation. — Ces découvertes devaient en entraîner d'autres, notamment en ce qui concerne le rôle des phosphates ; en effet, du sucre à l'acide pyruvique, tous les intermédiaires identifiés ont été trouvés à l'état d'éthers phosphoriques.

Les biologistes estiment, à la suite de HARDEN, qu'en l'absence radicale de PO_4H^3 la fermentation alcoolique serait impossible.

C'est dire à quel point le métabolisme fermentaire paraît lié à la phosphorylation ; il en va de même dans la glycolyse musculaire, mais il s'en faut qu'il en soit toujours ainsi ; dans les tissus embryonnaires et dans les tumeurs, la glycolyse, très intense comme on sait, ne comporte pas d'éthérification phosphorique. Les raisons de ces divergences nous échappent pour l'instant.

L'éther qui prend naissance au début de la fermentation alcoolique, le zymophosphate de HARDEN et YOUNG (2), est un hexosediphosphorique, le même quel que soit le sucre utilisé, glucose, fructose ou mannose. On lui attribue la formule suivante :



Il se forme en abondance, surtout en présence de fluorure, dans les extraits fermentaires de levure additionnés de sucre.

Par contre, il n'a pu jusqu'alors être isolé des moûts ensemencés de levure vivante et lorsqu'on l'y introduit artificiellement la levure le laisse pour compte. Aussi NEUBERG n'hésite-t-il pas à qualifier d'extraphysiologique le phénomène d'HARDEN et YOUNG.

On peut supposer que le zymophosphate est utilisé au fur et à mesure de sa production et que celui que l'on ajoute aux moûts ne

(1) SCHÖEN, *Bull. Chim. suc.*, 1936, 53, 228.

(2) HARDEN et YOUNG, *Proc. Roy. Soc.*, 1910, 82, 321.

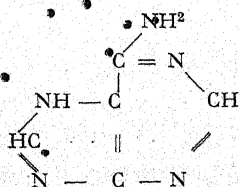
pénètre pas dans les corpuscules de levure. Il est plus vraisemblable qu'il prend naissance sous une forme différente de celle que nous connaissons, beaucoup plus labile et se prêtant mieux à la fermentation. Dans les extraits de levure eux-mêmes, le fructose-diphosphate préparé à l'avance, aussi bien que les éthers phosphoriques qui en dérivent — phosphoglycérol, phosphoglycérone, phosphoglycéral et phosphoglycéroïque — fermentent moins facilement que les sucres. N'est-ce pas la preuve que ces corps, à l'état naissant, se trouvent dans des conditions spéciales ?

La présence de traces d'arséniate favorise dans une forte mesure la fermentation des intermédiaires phosphoriques, on voit alors le zymophosphate utilisé aussi vite que les sucres monophosphoriques.

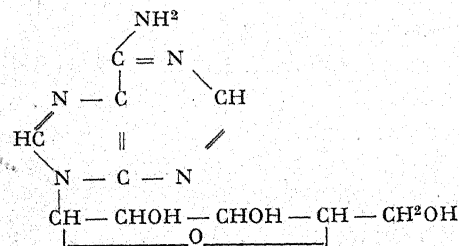
Les extraits de levure soumis à une dialyse radicale se montrent aussi incapables de faire fermenter le sucre que de le transformer en éther phosphorique. Par contre, ils restent parfaitement à même d'effectuer la saponification des hexose-phosphates. C'est pourquoi la synthèse du fructose-diphosphate est parfois attribuée à un ferment (*phosphatèse*) différent de celui (*phosphatase*) qui en provoque l'hydrolyse.

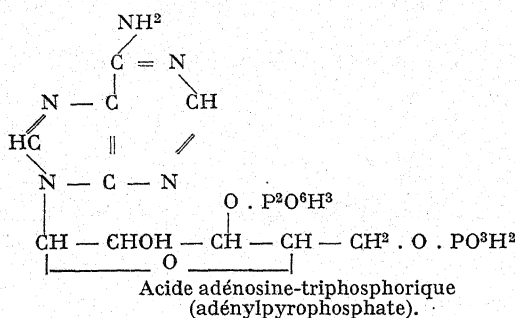
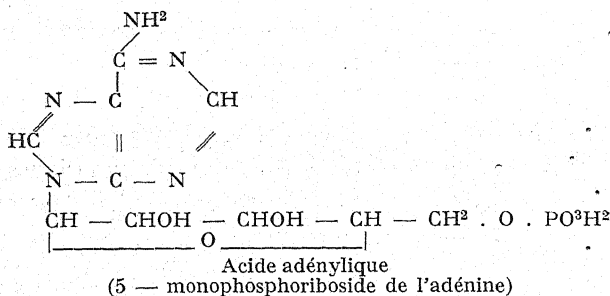
Il manque, disait-on, à ces préparations dialysées, quelque chose d'indispensable que l'on appelait un coferment, que l'on savait dialysable et thermostable, mais dont la nature restait inconnue. Nous sommes beaucoup mieux renseignés désormais.

Depuis quelques années, on soupçonnait certaines bases azotées de jouer un rôle dans la phosphorylation des sucres. Il n'est plus permis d'en douter. Qu'il s'agisse de la glycolyse musculaire ou de la fermentation alcoolique, un des facteurs essentiels de phosphorylation paraît être l'adénosine sous forme d'acide adénylique et d'acide adénosine-triphosphorique.



Adénine

Adénosine
(d. riboside de l'adénine).



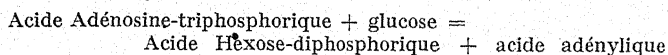
Il existe toujours, dans la levure, entre autres dérivés des bases azotées, de l'acide adénosine-triphosphorique et de l'acide adénylique, 5-phosphoriboside de l'adénine, isomère du 3-phosphoriboside qui fait partie de l'acide nucléique de la levure. On trouve, par exemple (1), dans 100 gr. de levure sèche, près de 0 gr. 4 d'acide adénosine-triphosphorique et 0 g. 1 d'acide adénylique.

Les préparations diastasiques, au contraire, toujours autolysées, n'en renferment que des traces ; il y en a quelques milligrammes tout au plus dans les liqueurs de zymase préparées suivant les indications de LEBEDEV. On sait à quel point leur pouvoir fermentaire est inférieur à celui de la levure vivante et combien se font attendre les premières bulles de gaz carbonique.

Or, l'addition à ces milieux artificiels d'un peu d'adénosine-triphosphorique abrège considérablement la période d'induction, tout comme le fait l'adjonction d'hexose-diphosphate. Comment ne pas en conclure que la formation de ce dernier est subordonnée à la présence du précédent ? L'adénosine-triphosphorique, par son groupe pyrophosphorique, particulièrement mobile, serait le bailleur

(1) LUTWAK-MANN et MANN, *Biochem. Zs.*, 1935, 281, 140.

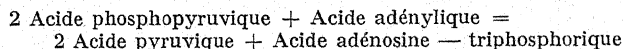
d'acide phosphorique pour l'éthérification du sucre, et le point de départ de la fermentation alcoolique aussi bien que de la glycolyse serait la réaction suivante (PARNAS (1)) :



On comprendrait bien de la sorte que les préparations diastasiques dialysées à fond, pas plus qu'elles ne fermentent ne puissent effectuer la synthèse du zymophosphate. Comment le feraient-elles en l'absence du bailleur de phosphore que ne sauraient remplacer les phosphates minéraux ? Et comme on s'explique bien qu'elles restent à même d'hydrolyser l'hexose-diphosphorique. Pour ce, le ferment est seul indispensable et la dialyse ne saurait l'éliminer. L'argument principal que l'on invoquait jadis pour attribuer la synthèse du sucre diphosphorique à un ferment spécial, une phosphatase, distincte de la phosphatase, s'en trouve affaibli.

Encore faut-il savoir comment l'acide adénosine-triphosphorique peut se régénérer au cours de la fermentation, de telle sorte qu'il apparaisse comme le facteur catalytique de phosphorylation.

Il n'y a qu'à se transporter au moment où l'acide phosphopyruvique auquel aboutit, en fin de compte, le morcellement de l'hexose-diphosphate perd son groupement phosphorique. L'acide adénylique qui figure dans l'équation précédente est là pour le recueillir en régénérant l'acide adénosine-triphosphorique :



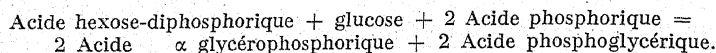
Rien de tout cela, bien entendu, ne s'effectue spontanément, nous voulons dire par voie purement chimique ; il faut, à toutes les phases du mécanisme, l'intervention des ferments de la levure.

Le fait indiscutable que l'addition d'acide adénylique à la levure fraîche ou aux préparations diastasiques augmente la teneur de ces milieux en acide adénosine-triphosphorique constitue une forte présomption en faveur de la théorie énoncée, de même que l'impossibilité de décrocher le groupement pyrophosphorique de ce dernier acide en présence de l'acide phosphopyruvique ou des éthers phosphoriques dont il procède.

(1) PARNAS, LUTWAK-MANN et MANN, *Biochem. Z.*, 1935, 281, 168.

L'avenir dira si l'intensité de la fermentation dépend, toutes choses égales, de la concentration du milieu en acide adénosine-triphosphorique.

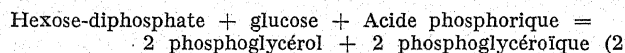
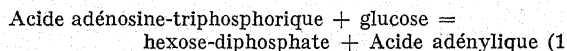
Il s'en faut, d'ailleurs, que l'acide phosphorique qui se fixe sur le sucre ne puisse provenir que de l'acide adénosine-triphosphorique. MEYERHOF (1) écrit comme suit la réaction initiale de la fermentation :



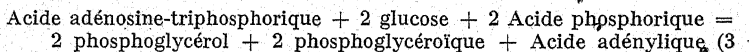
En même temps que l'hexose-diphosphate est transformé en phosphoglycérol et phosphoglycérique, deux molécules de PO_4H^3 se fixent sur le glucose, de telle sorte que le rendement est double de celui que l'on obtiendrait avec le seul hexose-diphosphate.

L'équation est basée sur les observations suivantes. Dans un extrait de levure additionné de NaF, l'hexose-diphosphate se transforme en un mélange équimoléculaire de phosphoglycérol et de phosphoglycérique, exactement comme dans un extrait de muscle. Or, la vitesse de cette réaction est beaucoup plus grande en présence de glucose ; une quantité de sucre, équivalente à l'hexose-diphosphate, est alors éthérifiée puis scindée, d'où le résultat indiqué plus haut.

L'intervention de l'acide adénosine-triphosphorique telle que la préconise l'Ecole polonaise de PARNAS n'y change rien. Si l'on additionne les deux équations :



On obtient :



L'hexose-diphosphate ne figure pas dans la dernière équation, sinon implicitement par la somme adénosine-triphosphorique + glucose, mais la moitié du phosphore fixé sur le sucre n'en provient pas moins, tout comme dans l'équation de MEYERHOF et de KRIESS-

(1) MEYERHOF, *Ann. Inst. Pasteur*, 1934, 53, 234.

LING, de l'acide phosphorique libre et non d'un phosphatide. L'extrait de levure, en présence de NaF, a donc bien la faculté de fixer PO_4H^3 sur le sucre et on s'explique mal que la présence de l'acide adénosine-triphosphorique soit nécessaire pour cela, d'autant que la dialyse, qui supprime dans l'extrait tout pouvoir d'éthérification, y laisse subsister la propriété d'hydrolyser les sucres phosphoriques.

Le mécanisme de la phosphorylation du sucre est loin d'être élucidé en dépit des récentes observations sur les préparations diastatiques de levure. Les idées nouvelles sur le rôle de l'acide adénosine-triphosphorique sont bien suggestives, mais il y a si peu de ce corps dans les milieux diastatiques, tels que le suc préparé suivant les indications de LEBEDEV, dont le pouvoir fermentaire n'est pas contestable bien qu'infiniment moindre que celui de la levure. Est-il sûr qu'en l'absence des éthers phosphoriques des bases azotées la fermentation du sucre serait suspendue dans ces milieux ?

Ce qui n'est pas douteux c'est la longueur de la période d'incubation dans les extraits de levure et l'abréviation de ce délai par addition d'adénylpyrophosphate aussi bien que d'hexose-diphosphorique.

En admettant que ces vues sur la fermentation ne fassent que s'accréditer dans la suite, dira-t-on pour autant que le coferment n'est plus désormais qu'une co-phosphatase et que celle-ci se réduit à une sorte de nucléotide, l'acide adénosine-triphosphorique ? Il y a de cela évidemment, mais peut-être n'est-ce pas tout. Il faudrait être certain qu'un extrait de levure rendu inerte par dialyse récupère infailliblement son pouvoir fermentaire par simple addition d'adénosine-triphosphorique. De toute façon, la phosphorylation, impossible en l'absence radicale du coferment, n'est pas sans requérir l'intervention du ferment proprement dit, de la zymase. Celle-ci, beaucoup plus complexe, thermolabile et colloïdale, quant à son support tout au moins, nous est pour l'instant complètement inconnue.

Les étapes du métabolisme fermentaire. — Sous les réserves formulées précédemment, on peut résumer ainsi, après MEYERHOF et PARNAS, les transformations successives que subit le sucre dans les extraits de levure au cours de la fermentation alcoolique.

1° Il se fait tout d'abord du fructose-diphosphorique ou ester de HARDEN et YOUNG. Se transforme-t-il en hexose-monophosphate avant de se fragmenter en deux chaînes en C^3 , comme cela se voit dans la glycolyse musculaire ? On ne le sait pas exactement ; il est certain, toutefois, que le fructose et le glucose monophosphoriques de NEUBERG et de ROBISON sont fermentescibles.

2° Le sucre se scinde alors, sous l'action de la zymo-hexase, en acide triose-phosphorique (phosphoglycéraldéhyde).

3° Par dismutation sur lui-même, l'aldéhyde donne l'alcool et l'acide correspondants.

4° Le phosphoglycérol en reste là, il est simplement saponifié ; le phosphoglycéroïde se transforme, par perte d'une molécule d'eau, en acide phosphopyruvique. C'est à ce niveau que s'effectue la déphosphorylation, grâce à la présence de l'acide adénylique.

5° L'acide pyruvique est décarboxylé, l'aldéhyde éthylique qui en résulte donne l'alcool par hydrogénation.

Telle est la suite des réactions durant la période d'induction. Dès qu'il y a dans le milieu suffisamment d'aldéhyde éthylique, celui-ci est dismuté avec le phosphoglycéraldéhyde, c'est le régime normal de la fermentation.

Du sucre à l'acide pyruvique, le métabolisme est le même aux détails près que dans la glycolyse musculaire (1). A partir de là, les choses changent d'aspect, l'acide pyruvique est décarboxylé par la levure, réduit en acide lactique par le muscle. Il reste à explorer ce domaine pour découvrir les raisons de cette divergence. La présence d'une même zymase chez les plantes et chez les animaux (2) n'est plus admise désormais. La production simultanée d'alcool et d'acide lactique par les tissus, dans les expériences de STOKLASA, n'a pas été confirmée et provient vraisemblablement d'une technique imparfaite.

Ainsi que nous l'avons dit dès le début, la série de ces transformations n'a été découverte qu'à la faveur d'expériences *in vitro*, en présence de fluorure ou de monoiodacétate. Il se peut que la théorie telle qu'elle est présentée ne traduise pas à la perfection ce qui se passe dans les corpuscules de levure ou dans le muscle vivant, mais elle en dit long sur les virtualités fermentaires des tissus mortifiés.

(1) EMBDEN, DEUTICKE et GRAFT, *Klinische Wochenschrift*, 1933, p. 213.

(2) STOKLASA, *Z. phys. Chem.*, 1907, 50, 303, 51, 156, 1909, 62, 36.

OBSERVATIONS BIOLOGIQUES

SUR LES GENRES

CYDONIA MILL., CHAENOMELES LINDL. ET DOCYNIA DECNE.

par M. V. A. EVREINOFF

Les genres *Cydonia*, *Chaenomeles* et *Docynia* constituent un groupe d'arbres fruitiers du même type, réunis communément sous le nom de *Cognassiers*. Ils présentent en effet, notamment le *Cydonia* et le *Chaenomeles*, de nombreux caractères communs, tels que la multiplicité des graines contenues dans les loges, l'inflorescence solitaire des fleurs, l'odeur caractéristique et agréable des fruits, etc... Ils se distinguent par les détails d'organisation suivants : les styles du *Cydonia* sont absolument libres et entourés par une excroissance de la capsule carpellaire, ses feuilles sont entières ; au contraire les styles du *Chaenomeles* et du *Docynia* sont soudés entre eux et dépourvus de l'anneau capsulaire, leurs feuilles sont digitées (dentelées) ; d'autre part, les espèces de *Chaenomeles* présentent un calice à paroi externe absolument lisse et leurs loges contiennent un grand nombre de grains de semence, tandis que le calice du *Docynia* a une paroi externe garnie d'un duvet très dense, et chacune de ses loges ne renferme que 4 à 10 graines. Ainsi, la parenté botanique entre ces trois genres paraît établie avec certitude ; en ce qui concerne les caractères différentiels secondaires propres à chaque espèce, ils ont été mis tout récemment en lumière, notamment par les travaux de C.K. SCHNEIDER [1] et A. REHDER [2].

La culture du *Cydonia* et du *Chaenomeles* était connue dès la plus haute antiquité, bien avant l'ère chrétienne ; le *Cydonia* était

répandu en Asie occidentale et en Europe, le *Chaenomeles* — en Chine. Aussi, le fait d'avoir été cultivé depuis des temps très anciens a-t-il certainement influencé la formation chez ces espèces, en particulier chez le *Chaenomeles*, de différents caractères morphologiques secondaires, et la constitution par la suite d'un grand nombre de variétés. A. REHDER [2] donne la description de plus de dix variétés de *Chaenomeles*.

Le *Cydonia* occupe une place importante en arboriculture, le *Docynia* et surtout le *Chaenomeles* relèvent plutôt de l'horticulture ornementale.

Cognassier commun (*Cydonia oblonga* Mill. = *Cydonia vulgaris* L.).

Le Cognassier se présente le plus souvent comme un arbuste pouvant atteindre parfois jusqu'à 5 m. 1/2 de hauteur ; son feuillage est irrégulièrement écarté ; les jeunes branches sont revêtues d'un duvet feutré ; les coursons annuels verts-olive ou rouges-brun sont finement duvetés. Les nœuds quoique fort nombreux sont si menus qu'ils ne deviennent perceptibles que sur des coursons de deux ans. Les bourgeons très velus sont protégés par des écailles peu nombreuses et peu serrées. Les feuilles à base arrondie ou légèrement cordiforme affectent la forme de larges oves à contours entiers et réguliers ; elles sont garnies de poils pendant la jeunesse ; leur face supérieure est de couleur vert-foncé, leur face inférieure, gris argent. Le pétiole relativement long (10-18 mm.) est également velu. Les fleurs solitaires, grandes, de couleur blanche ou plus souvent rose pâle fleurissent après le développement des feuilles. Les pétales à contours légèrement sinueux présentent une échancrure à leur sommet. Les étamines, en général au nombre de 20, sont disposées en une seule rangée (anneau), elles sont plus longues que les styles. Les styles, au nombre de 5, sont velus à leur base. Les fruits sont gros, uniformément jaunes, tomenteux ; ils tombent à la maturité.

Encore tout récemment, on considérait comme patrie du Cognassier commun une vaste région englobant le Turkestan, la Perse, la Caucasic, l'Asie Mineure, et l'Europe méridionale. A l'encôtre de cette opinion, les études récentes de VAVILOFF [3] en excluent le Turkestan ainsi que toutes les autres régions de l'Asie centrale. Les derniers travaux de ZHUKOVSKI [4], VORONOFF [5] et MED-

VEDEFF [6] permettent de limiter encore bien davantage le pays d'origine du Cognassier, à savoir la Caucasic méridionale, l'Arménie et les contrées voisines de la Perse et de l'Asie Mineure. D'après SCHAVROFF [7] c'est du littoral caucasien-Talysch — et persan-Mezanderan — de la mer Caspienne que serait issu le Cognassier. Ces considérations concordent d'ailleurs avec l'opinion de C.K. SCHNEIDER qui nie l'existence du Cognassier sauvage en Europe méridionale ; les spécimens sauvages que l'on y rencontre devront être considérés comme dérivés des formes anciennement cultivées (HEGI [8]). Par conséquent, conformément aux données les plus récentes, on devra considérer comme patrie du Cognassier commun la Caucasic méridionale, notamment l'Arménie et l'Azarbeïdjan, ou encore Talysch région du littoral de la mer Caspienne (KOMAROFF [9]).

La culture du Cognassier remonte à plusieurs siècles avant J.-C. Il semble qu'il ait été primitivement cultivé en Perse, d'où il s'est répandu bien avant l'ère chrétienne, vers l'est, au Turkestan et l'Afghanistan, vers l'ouest à travers l'Asie Mineure, les îles de la mer Egée en Europe méridionale, et vers le nord en Caucasic septentrionale, en Crimée et dans les pays balkaniques.

Déjà au VII^e siècle avant J.-C., le Cognassier était connu des Grecs qui l'avaient importé de Cydon, ville du littoral nord de l'île de Crète, et appelé pomme de Cydon (d'où son nom botanique *Cydonia*). Au temps de Solon, c'est-à-dire 600 ans environ avant J.-C., on connaissait la coutume selon laquelle la fiancée offrait le jour du mariage au fiancé un fruit du Cognassier — coutume qui a survécu en Attique jusqu'à nos jours. (TANFILIEFF [10]). De la Grèce, la culture du Cognassier a gagné peu à peu toutes les régions méditerranéennes, puis l'Europe méridionale et enfin l'Europe centrale. A l'heure actuelle la culture du Cognassier est surtout répandue dans les pays suivants : en Yougoslavie, en Bulgarie, en Italie, en Hongrie, dans certaines régions du midi de la France, en Crimée, en Caucasic, en Turquie et surtout en Perse, au Turkestan et en Afghanistan. Dans les régions centrales de l'Allemagne le Cognassier subit déjà fréquemment les effets néfastes des gelées et n'est guère cultivable dans les pays du Nord. Aux Etats-Unis d'Amérique la culture du Cognassier est surtout répandue dans les Etats de l'ouest.

D'après C.K. SCHNEIDER le genre *Cydonia* comporte les variétés suivantes :

a) Cognassier typique — var. *typica* Schn. (= *C. vulgaris*, var. *puriformis* Kirschn), à fruits piriformes, non côtelés..

b) Cognassier maliforme — var. *maliformis* Schn. (= *C. vulgaris*, var. *maliformis* Kirschn.) à fruits maliformes.

c) Cognassier du Portugal — var. *lusitanica* Schn. (= *C. vulgaris*, var. *lusitanica* Pers. = *C. lusitanica* Mill.) à fruits piriformes, côtelés. Cet arbre de taille plus élevée présente des feuilles plus larges et des fleurs plus grandes de couleur blanc rose.

d) Cognassier pyramidal — var. *pyramidalis* Schn. (= *C. vulgaris*, var. *pyramidalis* Dipp.) à feuillage étroit, pyramidal et à feuilles très minces.

Il existe en outre des formes de cognassiers à feuilles bigarrées, tant dans la variété typique que dans la variété maliforme :

e) *C. oblonga* Mill. var. *typica*, f. *marmorata*.

f) *C. oblonga* Mill. var. *maliformis*, f. *variegata*.

Ces deux dernières formes se rencontrent rarement et sont bien plus sensibles au froid que les autres.

Bien que C.K. SCHNEIDER [1] considère comme la forme typique du Cognassier celle à fruits piriformes, il nous est difficile de nous ranger à son avis pour les raisons suivantes. Quel que soit le mode par lequel se fait la multiplication du Cognassier — semis ou boutures — on obtient toujours des spécimens donnant des fruits maliformes et non piriformes. De même, les espèces qui ont regressé à l'état sauvage donnent en général des fruits maliformes. Par conséquent, on est amené à penser que c'est le cognassier à fruits maliformes et non pas le Cognassier à fruits piriformes qui constitue la forme typique du genre (EVREINOFF, [11]). Par ailleurs il faut souligner que de toutes les espèces fruitières le cognassier est la seule qui se multiplie facilement par bouture.

Toutes les variétés de Cognassier actuellement cultivées proviennent des formes que nous venons de décrire, donnant comme celles-ci des fruits soit maliformes, soit piriformes côtelés ou non côtelés. Le nombre des variétés connues en Europe est peu important, il n'en est pas de même pour la Perse et l'Afghanistan où il

existe, comme le rapporte VAVILOFF [12], un grand nombre de variétés de Cognassier très remarquables. En Europe, ce sont les variétés d'origine balkanique qui présentent le plus grand intérêt et attirent l'attention en premier lieu, en particulier celles provenant de Serbie, comme le « Monstrueux de Vrania » — le « Géant de Leskovatz » — « Tetovo », remarquables par la grosseur et la qualité de leurs fruits ; on peut y adjoindre la variété hongroise « Beretzki », issue, sans nul doute, des variétés balkaniques (EVREINOFF [13]). D'après mes calculs personnels, on ne cultive actuellement dans les vergers d'Europe qu'une trentaine de variétés (1) parmi lesquelles une place importante est réservée aux variétés nord-américaines. Ces dernières présentent un grand intérêt du fait que certaines d'entre elles sont très résistantes au froid (p. ex. « Fuller », « Orange », « Benthley ») (MACOUN [14]).

Avant de terminer cette description succincte des caractères botaniques du Cognassier, il faudra dire un mot des hybrides de ce dernier, qui présentent un intérêt tant au point de vue scientifique qu'au point de vue pratique. Parmi ceux-là, il y a lieu de relever tout spécialement l'hybride du *Cydonia* et du *Pyrus*, autrement dit :

Pyronia Veitch. C'est sous ce nom que l'on désigne un groupe d'hybrides obtenus par greffe ou par croisement entre le *Cydonia* et le *Pyrus* ; on l'appelle également *Pyrocydonia Winkleri* Daniel ; sa découverte est toute récente.

a) *Pyronia Danieli* Rehd. (*Cydonia oblonga* + *Pyrus communis*). C'est un hybride de greffe obtenu en 1902 par le Pr DANIEL de Rennes. En étudiant dans un vieux verger les greffons de poiriers sur cognassier dont le tronc fut recoupé à plusieurs reprises un peu au-dessus de la greffe, le Pr DANIEL a obtenu au niveau de la greffe même quelques jeunes rejetons dont l'un appartenait au Cognassier et cinq à la forme hybride désignée par DANIEL *Pyrocydonia Danieli* (DANIEL, [16, 17, 18], BOIS [19], SABACHNIKOFF [20, 21], TRABUT [22]).

(1) Par ordre alphabétique ces variétés sont les suivantes : Alger, Angers (d'), Benthley, Beretzki, Bourgeaut, Champion, Constantinople, de Mahon, Elefant, Fontenay (de), Fuller, Géant de Leskovatz, Gros de Provence, Gros du Roussillon, Japanese, Johnston, Meech's Prolific, Missouri, Mammouth, Monstrueux de Vrania, Orange, Rea ou Rea's Mammouth, Pear Quince, Pineapple, Portugal, Smyrna, Sucre de Perse, Tetovo, Van Demen. — A cette liste, il faudra ajouter quelques variétés locales d'Italie, de Yougoslavie et de Bulgarie qui présentent un intérêt purement local dans les régions où elles sont cultivées.

Dans le même verger, en 1912, s'est formé sur un vieux poirier porte-greffe, au niveau de la racine à une distance de 5-6 cm. de la greffe, un rejets présentant des feuilles plus fortement velues et de couleur différente, ni cordiformes, comme celles du cognassier, ni ovales comme celles du poirier, mais ovoïdes, d'une longueur de 4-6 cm., arrondies à leur base, irrégulièrement dentelées et enroulées dans le bourgeon. Vers la fin de leur développement elles perdent les poils de place en place et présentent une grande ressemblance avec les feuilles du poirier; le pétiole reste court comme celui du Cognassier.

Un autre hybride de greffe a été obtenu par DANIEL en 1913 et fut appelé :

b) *Pyronia Danieli*, var. *Winkleri* Rehd. (= *Pyrocydonia Winkleri* Daniel). Cet hybride qui ressemble au *Cydonia*, présente des feuilles se terminant en pointes, affectant la forme d'ellipses ovoïdes, très velues (PACHKEVITCH [23]).

c) *Pyronia Veitchii* Guillaumin (*Cydonia oblonga* + *Pyrus communis*). Cet hybride obtenu par croisement est connu depuis 1903; on l'appelle encore *Pyronia Veitchii* var. John Seden Guillaumin = *Cydonia Veitchii* var. Seden Trabut. Les feuilles elliptiques, longues de 5-6 cm. se terminent en pointe; dans leur jeunesse, elles sont garnies de poils; le pétiole est de 2 cm. environ. Les fleurs sont disposées par trois à l'extrémité des rameaux sur des pédoncules très courts; elles sont de dimensions très grandes pouvant atteindre jusqu'à 5 cm. de diamètre; leurs pétales sont finement dentelés; les étamines, au nombre de 20, présentent des anthères violettes. Les fruits oblongs, ellipsoïdes, peuvent atteindre jusqu'à 8 cm. de longueur (GUILLAUMIN [24]); ils sont de couleur jaune pâle.

d) *Pyronia Veitchii*, var. *luxemburgiana* Guillaumin, est connue depuis 1913; ses feuilles, pouvant atteindre jusqu'à 9 cm. de longueur, présentent une extrémité pointue ou émoussée, une base arrondie; les fleurs plus petites mesurent 3 cm.5 de diamètre; les fruits sont piriformes (GUILLAUMIN [25]).

Tous ces hybrides sont réunis actuellement sous le nom de *Pyronia*, quoique leur dénomination primitive, donnée par DANIEL lui-même, ait été *Pyrocydonia*. Leurs formes obtenues par greffe constituent ce que l'on appelle des « chimères périclinales », analogues

aux chimères obtenues en 1907-1908 à Tübingen par WINKLER avec des tomates. À l'heure actuelle l'existence d'hybrides de greffe est encore contestée par un grand nombre de naturalistes, qui prétendent que ce fait n'a pas été confirmé par les études relatives au nombre des chromosomes (PACHKEVITCH [23]). Cependant l'existence effective de telles formes ne peut être mise en doute. Par conséquent, avant de nier le fait même, il faudrait confirmer histologiquement, par des recherches plus approfondies, l'existence et la formation de ces hybrides.

Chaenomeles Ldt.

D'après C. K. SCHNEIDER, le genre *Chaenomeles* comprend quatre espèces. Il se présente comme un arbrisseau plus ou moins élevé, fréquemment épineux. Les caractères morphologiques communs du genre sont les suivants : bourgeons de petite taille, protégés par deux écailles ; feuilles épaisses, de consistance ferme, digitées, insérées sur des pétioles courts ; fleurs solitaires ou multiples à gros pétales ; étamines au nombre de vingt ou plus, pistils au nombre de cinq soudés à leur base, ovaire à cinq loges ; fruits volumineux, à nombreux pépins, maliformes. On connaît quelques espèces de *Chaenomeles* originaires de Chine et du Japon.

Chaenomeles sinensis Koehne — *Cognassier de Chine* (= *Pyrus sinensis* Poir. ; = *Cydonia sinensis* Thouin ; = *Pseudocydonia sinensis* Schn.). C'est un arbuste de grande taille pouvant atteindre 5 mètres et plus. Sur les vieux troncs, l'écorce se détache par grandes plaques écailleuses, comme celle des platanes, laissant subsister des taches d'un jaune vif. Les jeunes rameaux sont velus, mais les rejets annuels sont glabres et d'une teinte brun pourpre. Les bourgeons sont menus, plats, tomenteux. La face supérieure des jeunes feuilles est d'un vert vif, la face inférieure est beaucoup plus pâle ; plus ou moins velues, les feuilles se dénudent presque complètement au bout d'un certain temps ; en automne, elles prennent une teinte écarlate ; leur limbe très large affecte la forme inversement ovoïde, — ses bords sont arrondis. Les fleurs paraissent après les feuilles ; elles sont légèrement carminées, douées d'un arôme doux et agréable, tantôt monosexuées, tantôt bisexuées ; les pétales sont velus à leur base. Les fruits sont gros, parfois d'un volume considérable, pou-

vant atteindre 15 cm. de longueur sur 10 cm. de largeur, ombiliqués aux deux pôles, de couleur jaune paille, parsemés de taches brunes. La floraison est tardive — au mois de mai. La croissance de cet arbuste exige une situation à l'abri des intempéries. Sa patrie est la Chine. Il est cultivé depuis longtemps au Japon, sur le littoral de la Méditerranée et en Caucasic.

Cet arbuste très décoratif est fréquemment cultivé dans les jardins du midi de la France. Les fruits à peine comestibles à l'état cru ne sont guère utilisés à l'heure actuelle.

Les autres variétés de *Chaenomeles* se distinguent des précédentes par l'inflorescence multiflore des fleurs en corymbes par 2 à 6, et par un plus grand nombre d'étamines disposées en deux rangées.

Les avis émis par les naturalistes au sujet de ces variétés présentent de grandes divergences. C'est le point de vue de REHDER, soutenu avant lui par SCHNEIDER, qui nous paraît le mieux fondé.

Chaenomeles japonica Ldl. — *Cognassier du Japon*. Cet arbuste de petite taille, à branches écartées et épineuses atteint à peine 3 m. de hauteur; il est originaire de la Chine (Tien-Tay) et du Japon (îles de Gondo et Kiou-Siou).

Les feuilles sont de consistance ferme, d'aspect luisant, de couleur vert foncé. Les coursons annuels sont glabres, de couleur brunâtre ou vert-olive; les branches sont lisses. Les fleurs sont larges, de couleur rouge écarlate ou de toutes autres nuances et même blanches. La première floraison a lieu fin avril, et, dans certains cas, une seconde floraison se produit en août-septembre. Ces fleurs très belles sont appréciées en horticulture décorative. Le *Chaenomeles japonica* est cultivé depuis bien longtemps à cause de la beauté de ces fleurs et de sa grande rusticité; il a produit de nombreuses variétés. La résistance de cet arbuste est considérable: il n'est pas détérioré par les gelées, même en Russie centrale où il croît très facilement. Ses fruits peu volumineux, oblongs, ovalaires, pouvant atteindre 7 cm. de long, de couleur jaune pâle, sont utilisés pour la confection de confitures et gelées.

Des formes cultivées du *Chaenomeles japonica*, les plus connues sont :

a) *f. citripomma*, à gros fruits citriformes, de couleur jaune orangé, pouvant être confits.

b) *f. macrocarpa*, Cognassier du Japon à fruits volumineux, atteignant les dimensions d'une grosse orange.

c) *f. pedunculata*, à fruits piriformes à pelure verdâtre, jaunissant à la maturité.

d) *f. umbilicata*, à fruits ovalaires, d'un volume d'une grosse prune, de couleur jaune verdâtre, à fleurs rouge foncé ; buisson très touffu, pouvant être taillé et cultivé comme haie vive.

Toutes ces formes présentent un intérêt comme arbres fruitiers.

En outre, on connaît les formes suivantes appréciées pour leurs fleurs, doubles ou simples :

Alba, *alba grandifolia*, *alba sanguinea*, *cardinalis*, *carnea*, *candida*, *soccinea*, *eburnea*, *ganjardi*, *imbricata*, *inerius*, *nullardii*, *nivalis*, *rubra aurantiaca*, *rubra grandifolia*.

Chaenomeles lagenaria Koidz (*Chaenomeles cathayensis* C. K. Schn.), appelé également (*Pyrus cathayensis* Hemsl. ; *Pyrus japonica* Sims. non Thunb. ; *Cydonia japonica* Pers. ; *Chaenomeles lagenaria* Lois.) Cet arbuste de petite taille, originaire de Chine, est cultivé depuis longtemps au Japon et est connu en Europe depuis 1800 ; sa hauteur ne dépasse guère deux mètres ; ses branches étalées sont glabres et épineuses ; ses feuilles sont ovoïdes, à extrémité pointue, 3 à 8 cm. de longueur, digitées, lisses et luisantes ; les fleurs volumineuses d'un diamètre pouvant atteindre jusqu'à 5 cm. sont d'une couleur rouge écarlate chez la forme typique, mais peuvent présenter toutes les variétés de ton jusqu'au rose et même au blanc. Les fruits sont sphériques ou ovoïdes, d'une longueur de 3 à 5 cm., de couleur jaune vert, très aromatique. Il existe un grand nombre de formes horticoles du *lagenaria*, variant suivant la couleur des fleurs qui sont tantôt simples, tantôt doubles.

D'après REHDER le *Chaenomeles cathayensis* ne serait qu'une forme dérivée du *C. lagenaria* et non une espèce autonome :

Var. *Cathayensis* Rehd., est un arbuste ne dépassant pas trois mètres de hauteur ; les feuilles sont étroites, lancéolées, pouvant atteindre jusqu'à 12 cm. de longueur, finement dentelées, Les fleurs sont volumineuses, de couleur rose vif, pourvues d'étamines très longues. Les fruits sont plus volumineux que ceux du Cognassier du Japon, de forme allongée, souvent presque sphériques, ombiliqués aux deux pôles, lobulés, de couleur jaune citron, doués d'une

odeur très forte. La forme sauvage se rencontre en Chine centrale (Chanzy, Ishang, Shanking), la forme cultivée — au Japon.

REHDER place également dans ce groupe la var. *Wilsonii* Rehd. arbuste de taille élevée atteignant jusqu'à 6 m. de hauteur, à fleurs volumineuses de couleur rose saumon. Les fruits très gros atteignent jusqu'à 15 cm. de longueur. Sa patrie est la Chine occidentale et le Turkestan chinois. En horticulture cette forme est souvent désignée par le nom *Cydonia Mallardii* Hort.

La dernière forme autonome du genre *Chaenomeles* est le *Chaenomeles Maulei* C.K. SCHNEIDER (*Pyrus Maulei*, Mast.), le plus petit de tous, atteignant à peine 1 m. de hauteur. Le tronc et les branches sont parsemés de rares épines ; les feuilles dont la longueur ne dépasse pas 5 cm., affectent la forme inversement ovoïde ; les rejetons annuels sont recouverts de petites verrues très denses et plus ou moins garnies de poils. Les fleurs sont volumineuses, pourvues d'étamines plus courtes que les pistils complètement dénudés. Les fruits sont jaunes, sphériques, d'un diamètre de 4-5 cm. Sa patrie est le Japon, notamment Nippon et Kiou Siou où il croît à l'état de buissons dans les forêts montagneuses. Il est très répandu en horticulture à cause de la beauté de ses fleurs.

Enfin, on connaît une forme de taille encore plus petite appartenant à cette variété, c'est :

La var. *Alpina* Maxim., buisson presque rampant, à fleurs moins volumineuses que celles de la forme précédente.

Selon l'avis de V. PACHKEVITCH, le *Chaenomeles lagenaria* Koidz serait vraisemblablement une forme hybride du *Chaenomeles japonica* et du *Chaenomeles Maulei* C.K. SCHNEIDER.

Toutes les variétés et formes du *Chaenomeles*, en particulier les formes cultivées, présentent un grand intérêt tant en arboriculture qu'en horticulture ornementale. La découverte de nouvelles variétés cultivées du Cognassier de Chine, si apprécié comme arbre fruitier pour le volume considérable de ses fruits et comme arbuste d'ornement, permettra, sans nul doute, dans un avenir très proche, de réserver à ce dernier une place méritée dans les vergers et les jardins. Il en est de même pour le Cognassier du Japon qui, à cause de sa très grande résistance au froid, présente un grand intérêt pour l'hybridation et l'obtention, par ce procédé, d'espèces cultivées intéressantes pour l'horticulture.

Docynia Decne. — Le *Docynia* ne saurait égaler les deux genres précités, surtout en ce qui concerne son utilisation pratique en horticulture. D'après A. REHDER le *Docynia* comporte cinq espèces, toutes originaires de l'ancien continent.

C'est un arbuste à feuilles persistantes ou presque persistantes ; celles-ci sont entières en général, parfois digitées. Les fleurs, disposées par 2 à 5 en ombelles, fleurissent en général avant le développement des feuilles, parfois après ; les étamines sont en grand nombre — 30-50 ; les pistils, au nombre de cinq sont velus et soudés par leur base. Les fruits peu volumineux affectent des formes variées : sphériques, ovoïdes, piriformes. Le *Docynia* croît en Chine, dans l'Himalaya, en Annam. Un grand nombre de variétés du *Docynia* n'ont été connues que tout récemment, comme le *D. Delavayi*. C.K. SCHNEIDER et FRANCHET ont attiré l'attention sur certaines formes du *Docynia*, comme le *D. Doumeri*, qui, à leur avis, pourraient remplacer le pommier dans les climats tropicaux. Les fruits du *D. Doumeri*, très acides, ne sont comestibles qu'après cuisson. A. REHDER pense que par hybridation et assortiment on pourra obtenir des formes du *D. docymoides* Rehd. (*Malus docymoides* Schn.), cultivables en arboriculture. Ces arbres à feuilles, en général persistantes, parfois caduques, sont originaires du sud-ouest de la Chine. Les feuilles affectent des formes très variées, elliptiques, pointues, arrondies, entières ou digitées, à face supérieure de couleur vert luisant, à face inférieure légèrement duvetée, ressemblant au papier. Les fleurs sont grandes. Les fruits 2-3 cm. de long, sont tantôt sphériques, tantôt ovoïdes.

Le *D. Doumeri* Schn. (*Pyrus Doumeri* Bois) présente des feuilles arrondies de forme elliptique, des fruits assez volumineux, ovoïdes, de couleur vert-jaune, de saveur acide, mais comestibles.

Le *D. Delavayi* Schn. (*Pyrus Delavayi* Franchet) est un arbuste de taille assez élevée, à feuilles persistantes, de forme elliptique, entières, à face inférieure blanchâtre et veloutée. Les fruits sont petits et ovalaires.

Le *D. indica* Decne (*Pyrus indica* Wall., *D. Griffithiana* Decne) est un arbuste peu élevé, à fruits assez gros, maliformes.

Le *Docynia* — en particulier le *D. Doumeri* et le *D. indica* — présentent un intérêt incontestable pour l'arboriculture dans les

régions tropicales, notamment pour l'hybridation et l'obtention, par ce procédé, de variétés nouvelles de Cognassiers.

Grâce aux travaux de C.K. SCHNEIDER et A. REHDER, la botanique des Cognassiers est à l'heure actuelle définitivement mise au point. Cet article est un exposé sommaire de l'état actuel de la question concernant la botanique des genres *Cydonia*, *Chaenomeles* et *Docynia*.

V. A. EVREINOFF,
Docteur ès sciences.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. — SCHNEIDER (C.K.). — Illustriertes Handbuch der Laubholzkunde, *Iena*. 1906.
2. — REHDER (A.). — Manuel of cultivated trees and Shrubshardy in North America. N.-Y., 1927.
3. — VAVILOFF (N.I.). — The role of central Asia in the origin of cultivated plants. *Leningrad*. 1929 (en russe avec copieux résumé en anglais).
4. — ZHUKOVSKI (P.). — Les plantes cultivées de l'Asie Mineure. *Leningrad* (en russe).
5. — VORONOFF (G.). — Les poiriers sauvages du Caucase, *Leningrad*. 1926 (en russe avec résumé anglais).
6. — MEDVEDEFF. — Les arbres et arbustes du Caucase, *Tiflis*. 1925 (en russe).
7. — SCHAVROFF. — Le monde végétal du littoral de la Mer Caspienne. *Tiflis*. 1914 (en russe).
8. — HEGI (Dr.). — Illustriertes Flora von Mitteleuropa. *München*. 1921.
9. — KOMAROFF (V.A.). — L'origine des plantes cultivées. *Leningrad*. 1931 (en russe).
10. — TANFILIEFF (G.). — Histoire et origine des plantes cultivées. *Odessa*. 1923 (en russe).
11. — EVREINOFF (V.A.). — Sur les porte-greffes des poiriers. *Kharkov*. 1918 (en russe).
12. — VAVILOFF (N.I.). — L'Afghanistan agricole, *Leningrad*. 1929 (en russe avec résumé anglais).
13. — EVREINOFF (V.A.). — Les Cognassiers à gros fruits. *Paris*. 1932.
14. — MACOUN. — The Fruits of Ontario. *Toronto*. 1916.
15. — EVREINOFF (V.A.). — Les variétés de Cognassiers dans les vergers d'Europe, *Bulletin de Purpan*. 1936.
16. — DANIEL. — *Pyrocyclonia Winkleri*. *Bull. de la Société dendrologique de France*. 1906.
17. — DANIEL. — *Pyrocyclonia Danieli*. *Revue horticole*. 1904.

18. — DANIEL. — *Pyrocydonia*. *Bull. de la Société dendrologique de France*. 1925.
 19. — BOIS. — *Pyrocydonia Winkleri Daniel*. *Compte rendu des séances de l'Académie des Sciences*. T. CLVII. p. 995.
 20. — SABACHNIKOFF. — *Journal d'agronomie expérimentale*. 1912 (en russe).
 21. — SABACHNIKOFF. — *Ibid.* 1914 (en russe).
 22. — TRABUT (Dr). — *Pyronia Veitchii*. *Bull. de la Société dendrologique de France*. 1925.
 23. — PACHKEVITCH (V.V.). — *Traité de pomologie*. *Leningrad*. 1930 (en russe).
 24. — *Ibid.*
 24. — *Ibid.*
-

RÉACTIONS DES FRUITS AUX BLESSURES EXPÉRIMENTALES

par M. Roger ULRICH

(Suite)

2. Cicatrisation des blessures latérales (1).

Les larges ablations effectuées sur les fruits *très jeunes* entraînent leur chute, mais les fruits âgés cicatrisent.

A. — *Le Parenchyme sacrifié.*

Dès le premier jour, plusieurs couches de cellules superficielles commencent à s'aplatir au voisinage de la blessure. Par la suite, cette déformation continue, et comme la cuticule ne se contracte pas avec la même ampleur, elle se rabat sur la surface de la blessure en formant parfois quelques plis. Les grandes cellules du mésocarpe s'aplatissent simplement ; les petites cellules plissent généralement leurs cloisons radiales alors que les parois tangentielles restent plus ou moins parallèles à la blessure. L'écrasement se poursuivant par suite de la perte d'eau et aussi de la poussée exercée par les cellules vivantes sous-jacentes, les moitiés externe et interne de chaque membrane cellulaire tendent à s'accoler, une fine lame de débris cytoplasmiques et vacuolaires reste seule interposée (fig. 55). Ainsi se constitue peu à peu un magma plus ou moins desséché sur toute la surface de la blessure, formé essentiellement par des membranes dont la richesse en pectine facilite sans doute le collage. Sur cette escarre mortifiée (fig. 55) végètent parfois des saprophytes.

(1) Les réactions de ce fruit aux traumatismes ont été étudiées par GARMS [68] ; nous en reparlerons plus loin.

Le contenu vacuolaire des cellules du parenchyme sacrifié a disparu à la surface même de la blessure : il a dû s'écouler au moment

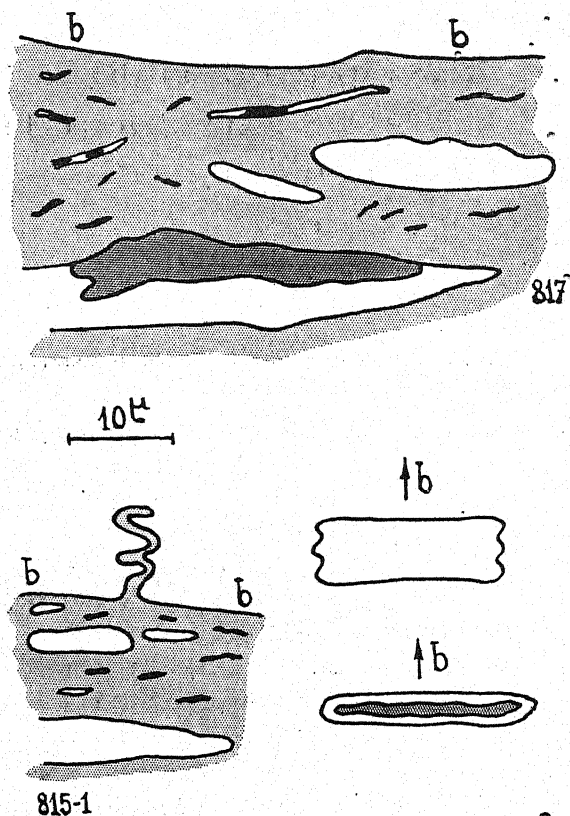


Fig. 55. — Parenchyme sacrifié (Groseille; BOUIN; Hématoxyline).

817 : structure de la croûte superficielle : en grisé clair, membranes ; en grisé sombre, contenus cellulaires.

815-1 : lambeau de membrane déformé à la surface (bb) de la lésion.

En bas et à droite (818-2) : schémas de deux types fréquents de déformations cellulaires : les flèches *b* indiquent la situation relative de la blessure.

du traumatisme. Quelques cellules sous-jacentes mortes n'en renferment pas non plus : les membranes l'ont sans doute absorbé. Enfin dans la grande majorité des cellules mortes fixées, le contenu vacuolaire a pris l'aspect d'une masse amorphe aux contours ondulés, très vivement colorée par l'hématoxyline. Dans le parenchyme

normal, les vacuoles renferment (après fixation) des précipités granuleux. Ces différences d'apparence tiennent soit à la concentration du contenu vacuolaire au voisinage de la blessure (1), soit à une altération chimique des produits dissous (oxydation des tannoïdes ?). Les composés pectiques interviennent peut-être aussi : car le coagulum homogène et hématoxylinophile des cellules mortes ressemble beaucoup à celui des cellules riches en mucilage du tégument externe de la graine (2).

Les débris cytoplasmiques ou nucléaires des cellules mortes sont toujours avides de colorants.

Parfois, ainsi qu'on l'a vu précédemment, de l'anthocyane

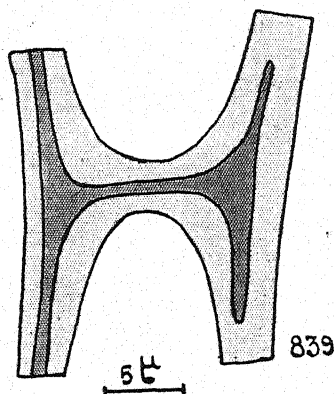


Fig. 56. — Membrane ligno-subérifiée (Groseille; BOUIN; Hématoxyline).

apparaît autour de la blessure ; on constate alors que le contenu vacuolaire de certaines cellules (petites ou grandes) est coloré en rouge et précipitable en bleu par le réactif de COURTONNE.

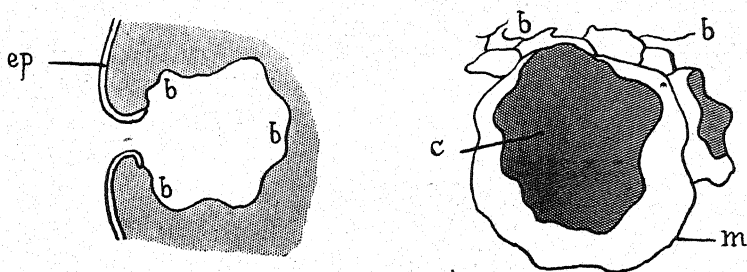
B. — Cellules ligno-subérifiées.

Sur les préparations fixées et colorées par l'hématoxyline, ces cellules se distinguent d'abord par une fixation locale, partielle, du

(1) Les solutions concentrées de tanins peuvent ne pas précipiter mais se prendre en masse sous l'influence des réactifs (GUILLIERMOND [83], p. 532).

(2) On admet à la suite des travaux de LLOYD [130], de MICHEL-DURAND [153] la présence, dans les fruits, de complexes tannoïdes-mucilages.

colorant dans les membranes (fig. 56). A la fin de la première semaine (1158-1), la lignification est nette dans les petites cellules sous-jacentes au parenchyme sacrifié les plus proches de l'épicarpe; leurs membranes se colorent par la phloroglucine chlorhydrique. Sur tout le reste de la surface de la blessure, la lignification est encore incomplète ou nulle. La coloration n'est d'ailleurs distincte que dans la partie moyenne de la cloison. Dans cette même région externe de la cicatrice, le soudan colore les membranes en jaunâtre sauf une



794

Fig. 57. — Influence d'une fente transversale (Groseille; BOVIN; Hématoxyline). — *bb* : surface de la blessure.

A gauche, coupe de la région blessée. *ep* : épicarpe. A droite fragment de coupe de la région lésée; *c* : contenu cellulaire plasmolysé; *m* : membrane cellulaire.

fine lamelle subéreuse interne rouge vif. De fines gouttes soudanophiles se trouvent dans ces cellules comme dans le mésocarpe normal.

Sur un fruit opéré en même temps que le précédent, mais dont la cicatrice était de plus faible diamètre (4,5 au lieu de 7 mm.), la lignification a gagné toute l'étendue de la lésion en 8 jours, la lame ligno-subéreuse formant une zone plus épaisse au voisinage de l'épicarpe (1158-2). Donc cette lame naît à la périphérie de la blessure, prend une forme annulaire et se ferme peu à peu par différenciation centripète. Sur les larges cicatrices, le plus généralement effectuées, la lame est continue au bout d'une dizaine de jours. Les grandes cellules du mésocarpe lignifient leurs parois tout comme les petites.

C. — Divisions cellulaires. Liège.

Une douzaine de jours après la blessure, des divisions récentes sont reconnaissables; les petites cellules seules sont capables de se

cloisonner. Les piles de cellules-filles sont coiffées par quelques cellules de liège.

3. Influence des sections transversales.

Ainsi qu'on l'a déjà vu (p. 14), dans la grande majorité des cas, de telles blessures ne cicatrisent pas ; les tissus les plus externes meurent et se contractent, puis le fruit tombe.

4. Influence d'une fente transversale.

GARMS [68] a étudié les réactions de fruits d'âge varié aux incisions transversales. Il a observé la formation de cals, le remplissage des grandes cellules mortes par des sortes de filaments constitués par des petites cellules divisées et agrandies (fig. 22). Il a vu également que sur le fruit très jeune, les grandes cellules sont encore capables de se diviser. Voici maintenant quelques observations personnelles.

La contraction du mésocarpe détermine la formation d'une sorte de poche sur les bords internes de laquelle la cuticule se rabat. Le parenchyme sacrifié est, dans ce cas, très peu épais. J'y ai observé quelques cellules dans lesquelles le cytoplasme s'était détaché partiellement de la membrane, la région encore adhérente étant la plus proche de la blessure (fig. 57).

CHAPITRE VIII

RECHERCHES SUR LES FRUITS D'IRIS

(*Iris pallida* Lam.)

1. Le fruit normal (1).

1° L'*épicarpe* à surface finement ridée est formé de cellules à grande vacuole renfermant très souvent un corps sphérique accumulant les colorants vitaux. GUILLIERMOND [83] a rencontré ce même organite dans la fleur et la feuille et l'a soumis à de nombreuses réactions microchimiques (p.511); il pense qu'il s'agit d'« une substance colloïdale ne correspondant pas à un tanin et qui serait unie par combinaison ou par adsorption à un composé oxyflavonique » (p. 527). L'*épicarpe* comporte de nombreux stomates.

2° Le *mésocarpe* renferme parfois aussi, dans ses cellules, les inclusions signalées dans le paragraphe précédent. Autour d'une grande vacuole s'étend une lame cytoplasmique dans laquelle sont inclus de nombreux chloroplastes, surtout au voisinage des faisceaux vasculaires. Ces plastes renferment des gouttelettes lipidiques colorables par l'AP Sudan ; GUILLIERMOND a observé ces inclusions grasses chez divers *Iris* dans les plastes des fleurs et des feuilles à certains stades de leur évolution ([84], p. 570).

3° L'*endocarpe* est formé de cellules allongées à parois épaisses pourvues de ponctuations ; on y rencontre des stomates.

Je n'ai jamais observé d'amidon ni de phénols précipitables par la caféine, le chlorure ferrique ou les réactifs de LINDT et de COURTONNE ; parfois un léger précipité jaune avec ce dernier réactif permet de supposer que des composés oxyflavoniques sont présents.

(1) Les fruits examinés avaient 42 à 64 mm. de long.

L'absence d'amidon chez les Iridées est connue (GUILLIERMOND [84], p. 548).

Aucun précipité appréciable dans les coupes n'a été obtenu après ébullition dans la liqueur de FEHLING; les sucres réducteurs sont donc rares; ils ont été trouvés par CARLES [35] dans les fleurs d'autres Iris (glucose, fructose chez *I. sibirica* et *I. germanica*).

Dans tous les fruits examinés, les cellules sphériques ménagent entre elles des méats renfermant de l'air et la région moyenne des membranes est riche en pectine. Les parois cellulaires du mésocarpe se colorent en gris bleuâtre pâle dans leur région moyenne par le réactif de ZIEGENSPECK (présence de cellose).

2. Cicatrisation de larges lésions latérales.

Les lésions ont toujours été effectuées sur des fruits charnus et verts, mais dont la croissance était terminée (long. : 42-64 mm.).

A. — Evolution du parenchyme sacrifié.

Trois jours après l'opération, les cellules superficielles sont aplaties et leur contenu altéré est jaune verdâtre; les chloroplastes ont pris des contours mal définis et sont devenus très granuleux. En général, l'AP Sudan colore les débris cytoplasmiques de façon diffuse; parfois il se fixe surtout au niveau de gouttelettes. Par la suite, l'aspect de ces cellules superficielles change peu: l'aplatissement continue, les cellules mortes se remplissent d'air, les lambeaux cytoplasmiques et les membranes brunissent. Les parois restent pecto-cellulosiques. Au bout de trois à quatre semaines, le parenchyme sacrifié peut se fragmenter (fig. 63).

B. — Différenciation des cellules ligno-subérifiées.

Dès les premiers jours qui suivent le traumatisme, ces cellules quoique peu distinctes à cause de leur forme sphérique sont reconnaissables car elles sont mortes (1177); le bleu de crésyl ne colore plus le suc vacuolaire mais il est fortement adsorbé par les membranes. Les chloroplastes sont, les uns normaux, d'autres en cours

de dégénérescence granuleuse (1) ; ils se transforment en paquets de granulations vert jaunâtre réfringentes (fig. 58). L'AP Sudán colore

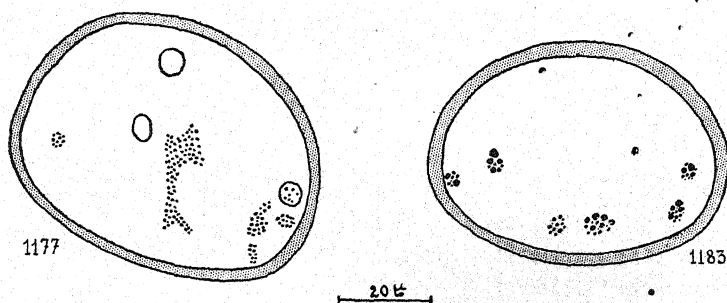


Fig. 58. — Dégénérescence des chloroplastes (*Iris pallida*).
1177 : examen dans le liquide de RINGER : fonte granuleuse.
1183 : chloroplastes normaux avec gouttes huileuses colorées par l'AP Sudan de CZAPEK.

vivement en rouge de nombreuses gouttes accolées à la face interne des parois. Ces gouttes se retrouvent dans les cicatrices plus évo-

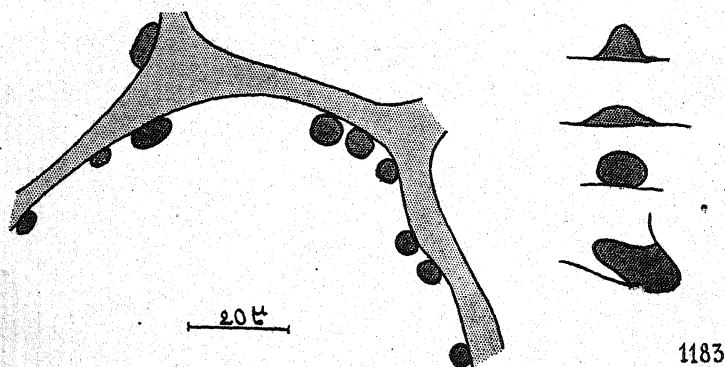


Fig. 59. — Gouttes soudanophiles des cellules ligno-subéreuses (*Iris pallida* ; AP Sudan). A droite, diverses formes de gouttes en contact avec la membrane.

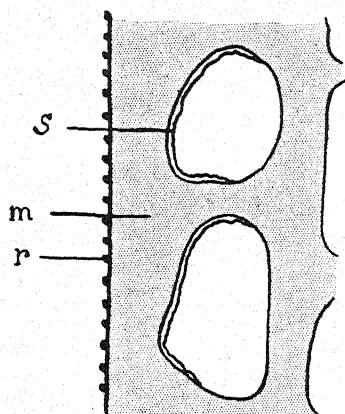
luées ; elles sont de taille variable, mais on en trouve dans les cellules ligno-subérifiées de beaucoup plus grosses que dans toutes les autres régions des coupes (fig. 59). Certaines semblent s'étaler au contact

(1) Fonte granuleuse ; « granulisation avec étalement » de BEAUVERIE [11].

de la membrane et peut-être s'y incorporer. Ces gouttes dérivent des chloroplastes (fig. 58).

Au début de la cicatrisation, les noyaux sont encore d'apparence normale et parfois en position traumatotactique (1177). Certains sont encore reconnaissables au 11^e jour ; plus tard ils deviennent de moins en moins distincts.

Au troisième jour, le chloriodure de zinc colore à l'intérieur



1167

Fig. 60. — Ligno-subérisation de l'épicarpe (*Iris pallida* ; AP Sudan).

m : membrane jaunâtre lignifiée ;
s : lamelle subéreuse.
r : surface granuleuse rouge vif.

de l'ancienne membrane encore pecto-cellulosique (bleue) une fine lamelle brune qui n'est peut-être qu'une mince couche de débris du contenu cellulaire car le Soudan ne la colore pas franchement en rouge. A la cellulose a dû se joindre déjà un peu de lignine car le soudan colore toute l'épaisseur de la membrane en jaunâtre et la phloroglucine la teinte faiblement ; le bleu de crésyl semble déceler la lignification à un stade très précoce car il est fortement adsorbé par cette membrane (1177). Enfin, à ce moment, la lignine n'a pas envahi la lamelle moyenne car l'oxalate d'ammoniaque dissocie encore les cellules.

Plus tard, la lame ligno-subéreuse complètement différenciée

est caractérisée comme d'ordinaire par ses membranes jaunâtres à contours nettement définis, enfermant une grosse bulle d'air et quelques débris bruns (1179). La lignification est encore faible au 11^e jour mais décelée surtout par le bleu de crésyl ; c'est seulement vers la 3^e semaine que la phloroglucine et le chloroiodure de zinc donnent des réactions positives intenses (1098-1).

Les membranes de ces cellules se colorent en noirâtre par le

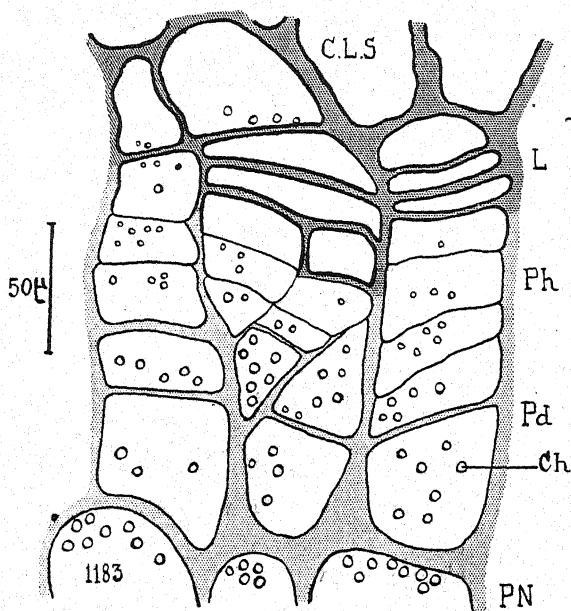


Fig. 61. — Cellules-mères évoluées (*Iris pallida* ; color. : chloroiodure de zinc).
 C.L.S. : cellules ligno-subéreuse ; L : liège ; Ph : Phellogène ; Pd : phelloderme ;
 PN : parenchyme normal. En trait fort, lamelles subéreuses. En gris sombre, membranes lignifiées. Ch : chloroplastes.

chlorure ferrique ce qui est singulier puisque les tanins manquent dans le parenchyme normal.

Enfin la lamelle subéreuse nettement distincte au bout d'une semaine après coloration au soudan, est parsemée, comme on l'a vu déjà, de gouttes lipidiques de taille variée, parfois relativement grosses (fig. 59). On peut aussi distinguer cette lamelle de liège après traitement par l'acide sulfurique concentré ou la cyanine glycinée ;

elle présente de légères ondulations comme dans les espèces déjà étudiées.

Au niveau de la lame ligno-subéreuse, l'épicarpe se modifie comme le parenchyme. La cuticule peut se colorer en violet par la phloroglucine chlorhydrique et certaines cellules montrent une fine lamelle subéreuse parfois incomplète (fig. 60).

C. — Divisions cellulaires. Phellogène. Phelloderme.

Vers le 6^e jour, on peut constater l'existence de cloisonnements récents sous la lame ligno-subéreuse. Ils se continuent et on peut

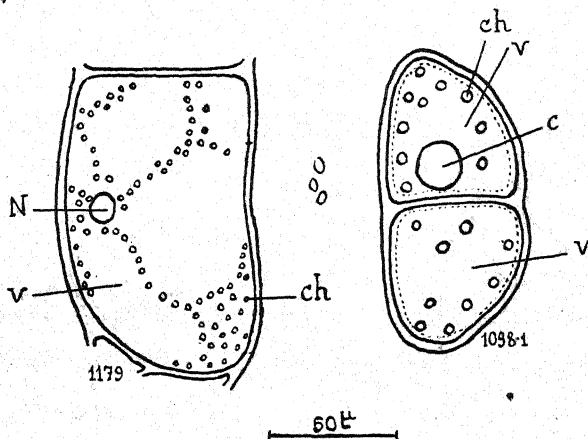


Fig. 62. — Cellules de phelloderme (*Iris pallida*).
 ch : chloroplastes ; c : corps phénolique fixant le rouge neutre ; N : noyau ;
 v : vacuoles.
 1179 : examen dans le liquide de RINGER.
 1098-1 : coloration par le rouge neutre.
 Au milieu, trois chloroplastes de cellules normales.

observer parfois des stades de caryokinèse (1167). Les divisions apparaissent dans plusieurs couches de cellules initiales mais elles ne persistent que dans les plus externes qui s'accroissent en même temps qu'elles se cloisonnent. Plus profondément on peut observer des divisions non accompagnées de croissance notable (fig. 63). Le phellogène, reconnaissable à sa grande transparence et à la petitesse de ses cellules, occupe approximativement l'avant-dernier quart de ses cellules, occupe approximativement l'avant-dernier quart des piles issues des cellules-mères. Il engendre du phello-

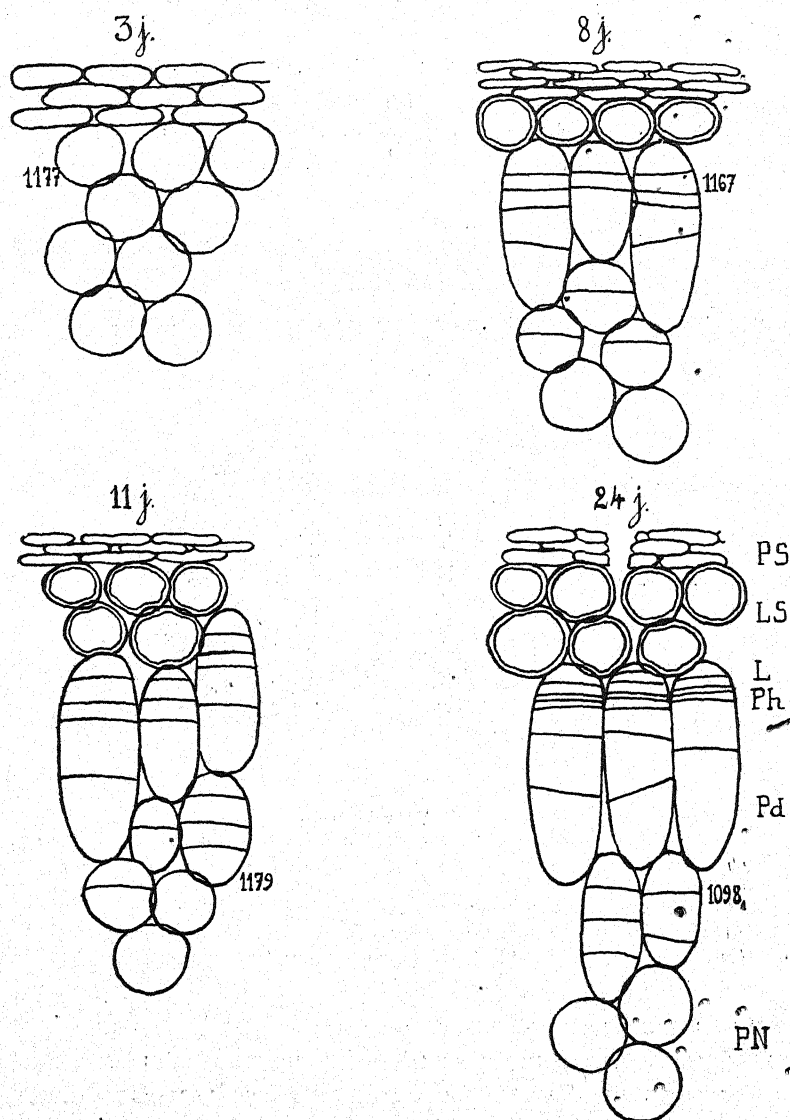


Fig. 63. — Tableau schématique de quelques étapes de la cicatrisation (*Iris pallida*; larges lésions latérales).

PS : parenchyme sacrifié; LS : lame ligno-subéreuse dont les cellules sont figurées en traits doubles; L : liège; Ph : phellogène; Pd : phelloderme; PN : parenchyme normal.

derme parfois très épais (1098-1). Phellogène et phelloderme ont des parois pecto-cellulosiques (fig. 61). Parfois la membrane ancienne qui-limitait la cellule-mère ne se colore plus dans sa partie moyenne par le chloriodure de zinc (pectine, 1098-1).

Chaque cellule renferme une grande vacuole colorable en bleu par le bleu de crésyl, en rose par le rouge neutre, dans laquelle on observe parfois un gros globule adsorbant fortement le colorant (fig. 62). Des chloroplastes de taille normale s'observent dans les cellules les plus internes des piles; ils sont de plus en plus petits lorsqu'on se rapproche du phellogène (fig. 61 et 62). L'AP Sudan montre la présence dans le phelloderme de très fines gouttes soudanophiles.

Les piles issues des cellules-mères sont solidement accolées entre elles sur les fruits évolués alors que, dans le parenchyme normal, se réalise l'évolution pectique. L'oxalate d'ammonium dissocie toute la coupe sauf la zone des tissus secondaires et des cellules ligno-subéreuses (1179).

D. — *Le Liège.*

Dès que le phellogène est nettement localisé, la cellule externe de chaque pile est reconnaissable comme le premier élément du liège. Auparavant, on voit parfois dans cette cellule les plastes s'accoler au noyau (1167). Puis cette première cellule meurt, le contenu dégénéré adhère à sa paroi qui se colore en violacé par la phloroglucine et en rouge par le soudan; une grosse bulle d'air occupe presque toute la cavité cellulaire. Ensuite, plus profondément, c'est une nouvelle cellule issue du phellogène qui meurt et se différencie en cellule subéreuse typique. Dans les cellules du liège incomplètement évoluées, l'AP Sudan colore de fines gouttes très nombreuses (1179). Parfois, la lamelle subéreuse ne tapisse pas dès le début toute la surface interne de la membrane; elle peut manquer du côté du phellogène (1167).

3. Observations sur des fruits d'*Iris pallida* placés dans des conditions de milieu particulières.

Pour chercher à préciser les facteurs de la cicatrisation, des fruits d'*Iris* blessés ont été soumis à des conditions de milieu variées.

Voici quelques-unes de ces expériences et leurs résultats. Il s'agit toujours de gros fruits très avancés dans leur croissance et comparables à ceux qui ont été étudiés précédemment ; les lésions sont dans tous les cas de larges ablations tangentielles latérales.

Un fruit laissé sur pied mais enveloppé après blessure dans plusieurs couches de papier d'aluminium empêchant l'arrivée de la lumière et de l'air ainsi que l'évaporation, montre au bout de 28 jours un développement restreint du parenchyme sacrifié et de la lame ligno-subéreuse réduits l'un et l'autre à une couche de cellules ; mais les divisions cellulaires sont très actives dans plusieurs assises ; il existe un phellogène et du liège.

KNY [113], OLUFSEN [179] ont montré déjà que la lumière n'est pas indispensable à la cicatrisation de la pomme de terre ; il n'en serait pas de même pour les feuilles (BUSCALIONI et MUSCATELLO, [34], p. 121).

OBSERVATIONS

SUR DES FRUITS SÉPARÉS DE LA PLANTE-MÈRE (1)

Un fruit cueilli, blessé et exposé à l'air sec du laboratoire ne tarde pas à mourir ; on n'y trouve après 17 jours aucune trace de division cellulaire, de lignification ni de subérification. Le fruit doit donc être alimenté en eau pour cicatriser. Dans les expériences suivantes, il y plonge par son pédoncule réduit à une longueur de 5 à 10 cm.

Des fruits comparables ont été placés dans le même local (laboratoire sec et chaud : 25° env.) dans un coin peu éclairé, les uns à l'air libre, les autres dans une conserve close renfermant au fond quelques centimètres d'eau. Des coupes ont été faites au bout de 14 et 19 jours. Elles ont révélé la grande influence de l'humidité du milieu ; les fruits de la conserve montrent comparativement aux autres :

(1) Des expériences sur la cicatrisation d'organes isolés ont été faites déjà sur des tubercules (pomme de terre : KNY [113], OLUFSEN [179], APPEL [6], etc. ; chou-rave : VÖCHTING [240]) et sur des feuilles (BLACKMAN et MATTHAEI [20] ; BUSCALIONI et MUSCATELLO [34]).

- 1° un développement infime du parenchyme sacrifié,
- 2° une lignification et une subérification réduites,
- 3° une plus faible activité des divisions (fig. 64).

La structure des cicatrices des fruits exposés à l'air libre est à peu près la même que celle des échantillons évolués sur pied.

J'ai cherché à préciser l'influence de la teneur en eau du milieu en plaçant le pédoncule du fruit dans l'eau d'un tube court, recouvrant l'eau d'une couche d'huile, et plaçant le tout dans une éprou-

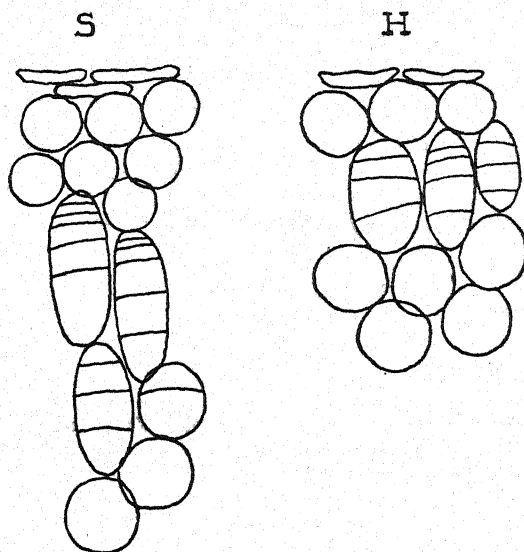


fig. 64.— Structure de cicatrices de fruits d'Iris isolés en atmosphère sèche (S) ou très humide (H).

vette ou un flacon renfermant une solution d'acide sulfurique de tension de vapeur connue. Jusqu'ici aucun fruit n'a cicatrisé dans ces conditions ; je reprendrai ces essais.

On peut étudier l'influence de l'eau également en plaçant des fruits isolés alimentés en eau :

- A — dans de l'eau courante (20° env.) ;
- B — dans une éprouvette ouverte renfermant de l'eau (atmosphère humide non saturée (20° env.) ;
- C — dans une éprouvette fermée renfermant de l'eau (atmosphère saturée).

Les fruits A ne montrent, au bout de 10 jours, ni lignification, ni subérification, ni divisions cellulaires.

Les fruits B au contraire présentent des divisions cellulaires actives, mais la lignification et la formation de liège sont très réduites.

Quant aux fruits C, leur comportement pendant 10 jours varie avec la température. Aucune réaction à 5° ni à 20°, mais à 35° quel-

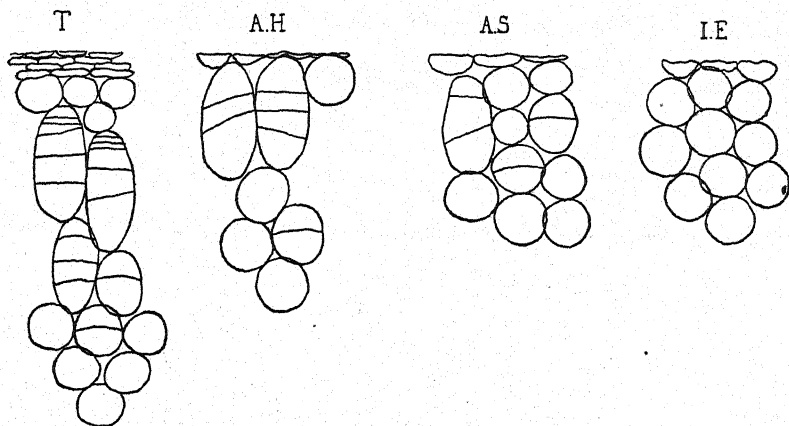


Fig. 65. — Cicatrices de fruits d'Iris isolés (10 jours).

T : témoin évolué sur pied à l'air libre ;

AH : atmosphère humide (20°) ;

AS : atmosphère saturée (35°).

IE : fruit immergé dans l'eau (20°).

ques cellules se sont divisées et certaines cellules superficielles sont lignifiées (fig. 65) (1).

Ajoutons qu'à 20°, la présence sur la blessure d'un papier filtre imbibé de jus de presse décanté de pédoncules de fruits, ne fait apparaître aucune division cellulaire (atmosphère saturée)?

Des fruits placés en atmosphère saturée d'humidité à 20° et dont le pédoncule plonge dans du liquide de KNOP montrent parfois un début de lignification mais aucune division cellulaire (10 jours).

Ces expériences montrent surtout l'importance de l'eau dans

(1) L'action favorable d'une élévation de température sur la cicatrisation a été notée déjà sur des tubercules par KNY [113], OLUFSEN [179], SCHNEIDER-ORELLI [207].

le développement du parenchyme sacrifié, l'activité des mitoses (fig. 65), la subérification et la lignification.

Sur des organes différents (tubercules, tiges, feuilles), divers auteurs ont montré déjà la nécessité d'une humidité modérée pour permettre le développement du liège cicatriciel (Ex : KNY [113], OLUFSEN [179]; WÄCHTER [243], p. 448; BUSCALIONI et MUSCATELLO [34]).

TROISIÈME PARTIE

LES PHÉNOMÈNES ÉLÉMENTAIRES DE LA CICATRISATION COMPARAISONS MORPHOLOGIQUES ET PHYSIOLOGIQUES

1. Les éléments anatomiques de la cicatrice.

Toutes les cicatrices de large surface étudiées dans les chapitres précédents possèdent une structure stratifiée. On y trouve successivement : à l'extérieur, deux régions mortifiées : le parenchyme sacrifié et la lame ligno-subéreuse ; plus profondément une zone de méristème où se différencie bientôt un phellogène. Celui-ci engendre deux tissus secondaires : vers l'extérieur, le liège et vers l'intérieur, le parenchyme secondaire ou phelloderme (1).

Cette disposition des éléments de la cicatrice rappelle celle des tissus externes d'une tige âgée comprenant rhytidome, liège, phellogène et phelloderme ; mais, dans les tiges normales, le phelloderme est très peu développé en général comparativement au liège, dans les tissus cicatriciels précédemment étudiés, c'est toujours l'inverse qui a lieu. Cette stratification de la cicatrice a déjà été signalée dans des espèces variées par de nombreux auteurs.

C'est semble-t-il HUGO VON MOHL qui, le premier, a montré la formation de tissus secondaires de blessure [160]. Il décrit dans la

(1) J'ai retrouvé la même disposition dans des cicatrices de fruits de Muguet (*Convallaria maialis*) et de Haricot (*Phaseolus vulgaris*).

cicatrice d'une tige de *Crassula* coupée transversalement : des cellules externes mortes, une zone de cellules en division, puis des cellules renfermant chlorophylle et amidon ; ces divers éléments sont empilés (p. 647).

BERTRAND [17] énumère, dans les termes suivants, les éléments des cicatrices : surface libre, tissus mortifiés (escarre), liège dont la partie extérieure au moins est sclérifiée, cambiforme double parallèle à la surface, tissu fondamental secondaire et parfois cambium engendrant bois et liber (p. 11).

FRANK [62] dans son grand traité de pathologie, distingue deux sortes de tissus cicatriciels : « Wundkork » et « Callus » (p. 60). Dans le premier, on observe des divisions cellulaires et une subérification superficielle. Dans le deuxième type, les cellules s'accroissent vers la blessure, produisant des sortes de filaments, les membranes externes se subérifiant parfois. FRANK ajoute que le « Wundkork » est le tissu cicatriciel caractéristique des organes riches en parenchyme (p. 62). Le callus se forme surtout à la périphérie des piqûres ou des perforations qu'il peut obstruer ainsi que le montre la fig. 12 de l'ouvrage de FRANK. Mes observations sur le Lierre confirment ce faible développement du liège autour des piqûres et la tendance au comblement. Dans le cas du fruit de Lierre, la distinction entre cal et liège cicatriciel est parfois délicate ; MASSART ([147], p. 53) puis BLACKMAN et MATTHAEI ([20], p. 545) ont fait des remarques analogues. La succession des éléments de la cicatrice dans le cas de « Wundkork » n'est pas nettement dégagée par FRANK.

BRENNER [27] énumère ainsi les éléments de la cicatrice d'une feuille de *Sempervivum* (p. 398, fig. 6) : 1° cellules contractées avec méats ; 2° cellules agrandies et subérifiées ; 3° phellogène ; 4° parenchyme normal.

Dans un important travail sur la chute des feuilles TISON [229] insiste sur la succession, dans la cicatrice, de plusieurs zones qu'il nomme « parenchyme sacrifié », « lame ligno-subéreuse » et liège. Il signale que ces formations apparaissent les unes après les autres [230]. Ses conclusions s'appliquent exactement à mes observations sur les fruits.

DEVAUX [50] à l'occasion des lenticelles, retrouve une stratification analogue (p. 193) : 1° cellules subitement tuées sans modifi-

cation des parois ; 2° cellules lignifiées mortes ; 3° cellules lignifiées et subérifiées ; 4° cellules subérifiées ; 5° cellules en division.

BLACKMAN et MATTHAEI [20] décrivent, sur la feuille de Laurier-cerise cicatrisée, la succession suivante : tissus morts, zone de division, parenchyme lacuneux devenu compact, parenchyme normal lacuneux et palissadique (fig. 8).

Dans son mémoire consacré aux réactions post-traumatiques de la pomme de terre, OLUFSEN [179] distingue sous la blessure : les « überschlagene Zellen », les cellules initiales du périoderme, puis les tissus normaux (p. 286).

VÖCHTING [240] consacre un livre aux curieux phénomènes de régénération observables sur le chou-rave. Une belle figure (pl. 4, fig. 14) montre la constitution d'une cicatrice : liège, phellogène, écorce secondaire, grandes cellules irrégulièrement divisées, cambium. L'auteur a vu parfois un nouvel épiderme se constituer sous le liège (fig. 3, pl. 10) et il pense que cette régénération constitue un phénomène très général (p. 78). J'ai observé quelques coupes auxquelles cette interprétation est peut-être applicable (Lierre, Muguet), mais jamais je n'ai vu de cambium sous le phelloderme chez les fruits.

HOLDEN [96] sur les Cycadées retrouve la série : cellules mortes, cellules subérisées vides, cellules cambiformes (p. 778).

COUTANT [44] distingue sur une cicatrice de tige d'*Opuntia* après 24 jours : cellules mortes à amidon, cellules à membrane lignifiée, liège hétérogène issu du méristème, phellogène, phelloderme, parenchyme cortical (p. 360).

BRIEGER [30] décrit, sur des organes variés, la même succession : a) cellules blessées superficielles sans gomme de blessure (« Wundgummi »), b) une à trois couches de cellules non déformées, mais dont la membrane est imprégnée de gomme de blessure (« überschlagene Zellen » d'OLUFSEN, « überreizte Zellen » d'HABERLANDT) (p. 85).

FEHÉR [59] observe que la chute des fruits est suivie par la ligno-subérisation de la cicatrice et par l'apparition plus tardive de périoderme.

WYLIE [265] étudiant les cicatrices de blessures foliaires artificielles y distingue : en surface la « pseudocicatrice » formée de tissus en collapsus, plus profondément la « cicatrice vraie » constituée par

du liège secondaire et du parenchyme (ex. : *Arbutus menziesii*, fig. 1, p. 282).

Enfin GARMS [68] indique la présence sous la blessure d'un fruit d'*Iris sibirica*, d'un « Geweberest » formé de cellules mortes indifférenciées, de cellules lignifiées et subérifiées, puis de cellules agrandies et divisées (fig. 15). Une telle disposition a été rarement rencontrée par l'auteur, ce qui s'explique par la faible surface libre des lésions qu'il pratiquait d'ordinaire.

Donc, qu'il s'agisse de blessures naturelles (chute des feuilles et des fruits, lenticelles) ou de lésions artificielles, les parenchymes végétaux réagissent de la même façon : par constitution successive de plusieurs barrages échelonnés de plus en plus profondément. Le plus anciennement observé est le liège, le plus récemment étudié par les auteurs est la lame ligno-subéreuse. Les noms multiples qui ont été donnés aux éléments de celle-ci montrent que sa nature est complexe. De nombreux mémoires consacrés à la cicatrisation ne la signalent d'ailleurs pas.

Il faut rappeler que ce type de cicatrice qui se rattache au « Wundkork » de FRANK est beaucoup moins caractéristique lorsque les blessures sont internes ou peu étendues.

De nombreux fruits lésés se sont contentés de former la première des zones énumérées ; le parenchyme sacrifié. A mon avis il ne s'agit pas là d'un mode particulier de cicatrisation comme l'indiquent divers auteurs, mais de l'absence de cicatrisation, la région mortifiée s'étendant de plus en plus en profondeur.

Les paragraphes suivants seront consacrés à des comparaisons avec les travaux antérieurs et à des indications sur le mécanisme de la cicatrisation.

2. Mouvements intracellulaires.

Trois sortes de déplacements des constituants cellulaires ont été signalés précédemment ; nous les étudierons successivement.

A. *Mouvement du noyau vers la membrane la plus proche des cellules mortes, à laquelle il vient s'accoler.* Ce phénomène a été signalé dans les chapitres précédents relatifs au Lierre (piqûres) aux

Pivoïnés (1-2 jours après la blessure), à l'*Iris pallida* (cellules ligno-subéreuses); je l'ai observé aussi sur de jeunes tomates, (1127) quatre heures et 28 heures après une piqure de l'épicarpe. Cette réaction du noyau aux blessures est un exemple de *Traumatotactisme positif*. De nombreux auteurs l'ont déjà signalée (1).

TANGL [222] le premier a noté le déplacement « traumatrope » temporaire du cytoplasme et du noyau des cellules épidermiques d'*Allium Cepa*.

NESTLER [173] a montré la généralité de ces mouvements en opérant sur des feuilles, des tiges, des racines de nombreuses espèces. Le déplacement traumatrope peut être définitif (*Calla*), mais généralement il est transitoire et visible surtout environ 48 heures après l'opération. Enfin l'auteur a signalé l'inconstance de la réaction d'une cellule à une autre, ce que j'ai pu vérifier sur le Lierre.

SCHÜRHOFF [209] a retrouvé le même déplacement des noyaux dans le pédoncule de *Taraxacum* après section longitudinale.

BIRKHOLZ [19] l'a observé dans la feuille de *Rhoeo discolor* ainsi que des déformations nucléaires dont il sera question plus loin (« Arbeitskerne »).

Enfin GARMS [68] ne semble pas l'avoir rencontré dans des péricarpes blessés, mais il le signale dans la graine de *Solanum nigrum* (p. 504).

Divers auteurs (MIEHE [154], p. 116; SCHWEIDLER [210]; KRENKE [118], p. 130), ont même vu des noyaux passer d'une cellule à une autre à travers la membrane, expliquant ainsi l'origine des cellules à noyaux multiples.

Il est probable que le noyau est passif dans ce mouvement et entraîné par le cytoplasme; le déclenchement ou l'accélération de déplacements au sein de ce dernier ont été observés bien souvent à la suite de blessures (Ex.: FRANK [61 bis]; KRETZSCHMAR [119], etc.).

Mes observations sur ce sujet cadrent avec les données précédentes; j'y ajouterai quelques compléments :

1° la réaction du noyau est plus fréquente après piqure que lorsque la blessure effectuée a une grande surface;

(1) Historiques détaillés dans les ouvrages de TISCHLER ([226], p. 174) et de KRENKE ([118], p. 130 et 178).

2° la cellule meurt souvent avant d'avoir ramené son noyau à la position initiale ;

3° les cellules à deux noyaux sont assez fréquentes dans les cicatrices, mais il est impossible de dire si le déplacement du noyau a été effectué activement ou passivement (lors du traumatisme ou de la confection de la coupe) ;

4° le déplacement est extrêmement caractéristique lorsque, dans un cordon de parenchyme, une cellule vivante voisine avec une cellule morte (fig. 51). Cette disposition suggère une influence excitante de la cellule morte ; PRINGSHEIM ([194], p. 640) fait allusion à une diffusion de substances issues de la cellule nécrosée. On peut alors se demander si le traumatotactisme n'est pas un cas particulier du chimiotactisme. RITTER [202] a constaté expérimentalement sur l'oignon que les deux tactismes interviennent, mais ne se confondent pas ; le temps de latence est en effet plus grand pour la réaction chimiotactique.

B. La division du noyau dans les grandes cellules-mères vacuolisées est fréquemment précédée par un déplacement qui l'amène au centre de la cellule. Ce phénomène a été étudié par HARTSEMA [89] sur les boutures de feuilles de *Begonia Rex* ; la figure 12 de son travail ressemble beaucoup à celle que j'ai dessinée plus haut (fig. 33, p. 80).

C. Les cellules les plus proches des blessures présentent assez fréquemment avant de mourir un déplacement de leurs chloroplastes qui viennent s'accoler étroitement au noyau (Pivoines, *Iris pallida*, Ligre). FRANK [61 bis] a observé sur des feuilles d'*Elodea* un déplacement des chloroplastes au voisinage des blessures (p. 238). KÜSTER ([122] et [125], p. 72), CORNET [43], ILJIN [101] ont déterminé expérimentalement le groupement en paquet ou systrophe des plastes par déshydratation d'organes végétaux variés. Il est donc vraisemblable que cette disposition des plastes est due à la perte d'eau consécutive au traumatisme (1).

(1) Cette accumulation des plastes autour du noyau est signalée ailleurs par KÜSTER [124] comme une disposition fréquente dans les péricarpes. Chaque fois que je l'ai signalée comme une réaction post-traumatique, je me suis assuré qu'elle n'était pas réalisée dans le parenchyme normal.

3. Nécrobiose.

Les dégénérescences liées à la mort des cellules se rencontrent dans les deux régions les plus externes des cicatrices : parenchyme sacrifié et lame ligno-subéreuse. On peut étudier ces phénomènes successivement sur la membrane, le cytoplasme et ses inclusions.

A. *La membrane.* — Dès que la cellule est exposée à l'air, elle perd de l'eau et sa turgescence diminue. La membrane d'abord tendue sous la poussée du suc vacuolaire revient sur elle-même et atteint ses dimensions d'équilibre. Mais le contenu vacuolaire continue à se déshydrater ; il se contracte et entraîne avec lui le cytoplasme. Celui-ci suivi d'abord par la membrane finit par s'en déta-

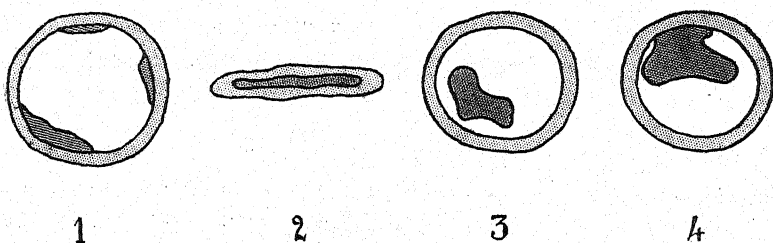


Fig. 66. — Rigidité des membranes et adhérence du cytoplasme (schémas).
1 : forte adhérence, grande rigidité ; 2 : forte adhérence, membrane déformable ; 3 : faible adhérence, membrane rigide ; 4 : adhérence locale.

cher sur une plus ou moins grande surface, ou bien il se déchire, les lambeaux restant fixés à la paroi. Sur les coupes, on peut observer ces deux dispositions, en relation avec la plus ou moins grande adhérence du cytoplasme à l'égard de la membrane, et aussi avec la rigidité de cette dernière (fig. 66). Lorsque le cytoplasme s'est contracté ou fragmenté, de l'air entre dans la cellule.

La déformation de la membrane qui vient d'être étudiée ne s'effectue pas librement car chaque cellule est retenue par ses voisines. Dans les parenchymes compacts par exemple, la lame de tissus vivants sous-jacente à la blessure empêche toute contraction dans une direction tangentielle à la surface et les cellules s'aplatissent radialement. Dans les parenchymes lacuneux, les cellules, plus libres de leurs mouvements, sont déformées plus irrégulièrement.

Si le fruit poursuit sa croissance pendant la cicatrisation, des

pressions centrifuges prennent naissance qui accentuent l'aplatissement des cellules mortes puis crevassent le parenchyme sacrifié.

Seules les cellules à paroi lignifiée (sclérites du coing, cellules ligno-subéreuses) ou renfermant un oursin d'oxalate (Lierre) ne subissent pas de déformation.

Remarquons que les déformations des membranes mentionnées et figurées plus haut sont approximatives car le contact du liquide d'observation ou des fixateurs suffit souvent à déplisser plus ou moins la membrane qui s'imbibe et peut se séparer du cytoplasme (pseudoplasmyse d'ILJIN). J'ajouterai cependant que sur les vieilles cicatrices l'écrasement cellulaire semble bien irréversible.

Les variations de forme des cellules au cours de la dessiccation ont été étudiées notamment par STEINBRINCK [217 et 218], HOLLE [98], ILJIN [101] qui ont observé avec soin la contraction, le plissement des parois, l'entrée d'air dans les cellules à paroi mince. STEINBRINCK cite dans son mémoire ([217], p. 277) l'observation suivante de ROTHERT : à la suite d'une perte d'eau, les membranes des cellules à cristaux s'appliqueraient contre ceux-ci en épousant leur forme, ce que je n'ai jamais vu dans les fruits.

Ces déformations des cellules au voisinage des lésions ont été notées par de nombreux auteurs (SCHÜRHOFF [209] ; WYLIE [264], etc.) ; elles sont évidemment dues à la perte d'eau qui s'effectue à la surface de la blessure.

Les membranes des cellules mortes superficielles restent pecto-cellulosiques mais se colorent souvent en jaune ou en brun (Abricot, Pivoine, Iris, Pêche). Cette coloration est signalée comme un phénomène général par KÜSTER ([123], p. 380) ; elle est relatée également dans de nombreux mémoires notamment par WÄCHTER ([243] p. 449), HOLDEN [96 et 97], NAKANO [168], PALLADIN [180], etc. Il ne faut pas considérer cette coloration comme un signe de lignification ou de subérification. ZIMMERMANN ([269], p. 60) a insisté sur cette source d'erreurs que certains auteurs modernes n'ont pas évitée. Le traitement rapide par l'eau de Javel éliminant le colorant et non la lignine permet d'être fixé à ce sujet. On admet généralement (TSCHIRCH [231], p. 126 ; HOLDEN [97]) que la coloration brune est due à des tanoïdes adsorbés par la membrane et oxydés (phlobaphènes). L'affinité des membranes pecto-cellulosiques pour les tanoïdes a été maintes fois démontrée expérimenta-

lement (Ex. : GRIEBEL [79]). Ces tanins peuvent mordancer la paroi cellulaire (LLOYD [130]) et permettre sa coloration par le soudan malgré l'absence de lignine et de subérine.

Notons que d'autres produits bruns ou capables de brunir passent certainement du cytoplasme mort dans les membranes (voir p. 20 : brunissement oxydasique). Ceci permet d'expliquer l'absence d'affinité pour le chlorure ferrique fréquemment observée sur les membranes du parenchyme sacrifié.

B. Le cytoplasme. — Nous avons examiné dans le paragraphe précédent les déformations (contraction, morcellement) du cytoplasme et ses rapports d'adhérence avec la membrane. Quelques précisions vont être apportées ici à ces questions et d'autres propriétés du cytoplasme mourant ou mort seront étudiées. Nous examinons successivement les points suivants :

- a) adhérence du cytoplasme à la membrane ;
- b) aspect granuleux ;
- c) accroissement de la perméabilité ;
- d) adsorption des colorants ;
- e) brunissement ;

KLEMM [110] a consacré un intéressant mémoire à la nécrobiose du cytoplasme et FRANK ([62], p. 9) dans un exposé succinct mais très précis en a résumé les caractéristiques les plus importantes. LEPESCHKIN [128] décrit en une phrase la mort du cytoplasme : « Alles Flüssige wird starr, alles Homogene wird körnig, faserig oder wabig, ... die selektive Permeabilität ... geht verloren, die Adsorptionsfähigkeit für Farbstoffe nimmt zu » (p. 538).

a) *Adhérence du cytoplasme à la membrane.* — Généralement le cytoplasme en se contractant ne tarde pas à se séparer de la membrane ainsi qu'on l'a vu précédemment. Chez la Groseille, j'ai signalé plus haut (fig. 57) que parfois l'adhérence est localisée du côté de la lésion ; j'ai observé cette disposition sur un seul fruit fendu latéralement. KÜSTER [125] a signalé des cas de plasmolyse analogues (p. 95, fig. 28). BÜNNING a indiqué également [33] des variations d'adhérence en divers points de la membrane (p. 24).

b) *Aspect granuleux.* — Cette forme de la dégénérescence du cytoplasme, conséquence de sa coagulation a été fréquemment

observée (KLEMM [110]; KÜSTER [123], p. 370). Cette coagulation post-traumatique a été étudiée avec soin par PORODKO [187], LE-PESCHKIN, BÜNNING [32 et 33]. AMAR a montré expérimentalement que la coagulation est la conséquence d'une déshydratation [4].

c) *Accroissement de la perméabilité.* — Le suc vacuolaire des cellules externes se concentre d'abord par perte d'eau ; il peut finir par disparaître complètement. L'eau peut passer dans les cellules et les méats voisins, ainsi que l'a observé JANSE sur des racines blessées (1). On sait depuis longtemps que la fanaison est accompagnée d'exosmose (NÄGELI, MATRUCHOT et MOLLIARD [150]). Cet accroissement de perméabilité a été étudié en particulier par BÜNNING [33]. Les substances dissoutes sont adsorbées par le cytoplasme et par les membranes. Sur les fruits, on n'observe généralement plus de précipité dans les vacuoles avec les réactifs des tanoïdes (Coing, Pivoine, Abricot) ; cependant, sur le matériel fixé, les vacuoles renferment encore des sortes de laques colorables laissant supposer que des traces de phénols ont été retenues par des colloïdes du contenu vacuolaire concentré (Groseille, Pivoine, Lierre). La diffusion des tanoïdes hors de la vacuole au cours de la nécrobiose a d'ailleurs été observée par de nombreux auteurs (Ex. : VAN WISELINGH [260]). MUNTZ [167], KLERCKER ([111], p. 31), ont remarqué la fixation énergique du tanin par le cytoplasme ; après ce tannage, il résiste sans doute mieux à la putréfaction.

d) *Adsorption des colorants.* — Le cytoplasme du parenchyme sacrifié et de la lame ligno-subéreuse possède chez toutes les espèces étudiées ici un pouvoir adsorbant considérable à l'égard des colorants vitaux et nucléaires (hématoxyline, safranine). Ce fait a été mentionné déjà (Ex. : MAUMUS [151], p. 610). Il peut s'expliquer par un mordantage dû aux tanoïdes adsorbés. Il est probable aussi que des changements de propriétés physiques du cytoplasme interviennent (tension superficielle, variations électriques) (2). Enfin la chromatine issue des noyaux disparus joue peut-être un rôle.

e) *Brunissement.* — Comme la membrane, le cytoplasme mort brunit fréquemment ; divers auteurs l'ont observé sur des tissus

(1) Cité par KÜSTER ([125], p. 28).

(2) Pour BECQUEREL [13] : le cytoplasme d'abord chargé négativement deviendrait positif au cours de la nécrobiose.

cicatriciels. (Ex. : KABUS [104] ; NAKANO [168], etc.). On a expliqué ce phénomène de différentes manières :

- 1° adsorption et oxydation des tanoïdes (HOPPE-SEYLER [99]) ;
- 2° oxydation d'un chromogène respiratoire en pigment brun (OPARIN ; KRENKE [118], p. 194 et 373) ;
- 3° altération chimique engendrant des produits humiques (HOPPE-SEYLER [99]).

4° intervention d'oxydases. Leur importance dans le brunissement a été étudiée antérieurement (p. 20). BRIEGER [30] considère l'« Oxydaseanreicherung » comme la première réaction à une blessure. Ajoutons que la mort semble activer les oxydases : KRASNOSSELSKY [116] a montré que le jus de presse d'oignon coupé a un plus grand pouvoir oxydasique que celui d'un oignon normal.

5° remplissage des cellules par la gomme de blessure (RECHINGER [199], p. 332).

Les phénols doivent intervenir dans le brunissement que j'ai observé, car les lésions du Coing qui en renferme beaucoup se colorent bien plus intensément que celles de l'Iris, dont la teneur en tanoïdes est très faible ou nulle. L'intervention d'oxydases est aussi extrêmement probable. Il est possible enfin que des dérivés de la chlorophylle contribuent à colorer en jaunâtre le cytoplasme mort (Ex. : *Iris pallida*). Il est difficile d'attribuer le brunissement à l'une ou à l'autre des causes énumérées plus haut, car elles ne sont pas absolument indépendantes : par exemple les oxydases agissent sans doute sur les tanins.

C. *Les inclusions cytoplasmiques.* — Il ne sera question ici évidemment que des inclusions des cellules mortes étudiées dans la deuxième partie : chloroplastes, gouttes lipidiques, amidon, vacuoles.

a) *Chloroplastes.*

La disparition de la chlorophylle est générale dans le parenchyme sacrifié et la lame ligno-subéreuse. Elle a d'ailleurs été observée maintes fois déjà (Ex. : BRETTFELD [28] ; MASSART [147] ; WYNEKEN [266] ; KÜSTER [123], p. 377 ; GARMS [68]). Divers modes de dégénérescence des chloroplastes ont été décrits dans des chapitres antérieurs :

- 1° plastes homogènes mais hypertrophiés et déformés (Pivoines, fig. 26, p. 74).

2° plastès vacuolisés à réseau colorable (Pivoines, fig. 26).

3° plastès contractés (Pivoine).

4° plastès perdant leurs contours définis et libérant des gouttelettes grasses (*Iris pallida*, fig. 58).

Déjà KLEMM ([110], p. 646) a vu dans des cellules mourantes des plastès hypertrophiés. KÜSTER ([123], p. 377) étudie dans son grand traité les dégénérescences vacuolaire et graisseuse, la contraction et la fragmentation. Il a observé d'autre part, sur des baies mûres de Solanées, des plastès vacuolisés [124].

La dégénérescence que j'ai signalée plus haut sur les plastès d'Iris a été très bien décrite déjà par GUILLIERMOND (lipophanérose) sur des fleurs et des feuilles d'*Iris germanica* au cours de la fanaison ([82]; [84], p. 1.033); par DUFRÉNOY [56] sur des tissus parasités; par BEAUVERIE [10 et 11] qui a observé cette « granulisation avec étalement » notamment sur des plastès de Ficaire en milieu hypertonique. Ces auteurs sont d'accord pour expliquer cette dégénérescence par une « précipitation... du complexe colloïdal... protéolipoidique, avec ségrégation visible des lipoides » (BEAUVERIE [11], p. 214) (1).

Cette ségrégation est due à une perte d'eau dans les expériences en milieu hypertonique et sans doute aussi à la suite des traumatismes.

b) *Inclusions lipidiques*. — Je les ai recherchées surtout dans les tissus cicatriciels de Pêche et d'Iris en utilisant comme réactif l'AP Sudan de CZAPEK. Elles présentent un aspect différent dans le parenchyme sacrifié et dans la lame ligno-subéreuse. Dans le premier, ce sont de très fines gouttes semblables à celles du cytoplasme normal. Dans les cellules ligno-subéreuses, ce sont des gouttes de diamètre très variable mais souvent plus grosses que partout ailleurs. Mes observations sur la Pêche et l'Iris m'ont conduit à admettre que ces gouttes dérivent de la dégénérescence des chloroplastes (voir paragraphe précédent). Au contact de la paroi cellulaire, il est probable que des petites gouttes se soudent pour en donner de plus grosses. Remarquons que BRETZFELD ([28], p. 144) a vu, sous des

(1) DUFRÉNOY dans l'un de ses mémoires ([57], p. 148) a noté la fréquence de la désintégration des complexes lipoprotéiques au voisinage des blessures.

blessures de feuilles d'Orchidées de l'huile apparaît tandis que la chlorophylle disparaissait.

c) *Amidon*. — J'ai maintes fois observé, surtout sur les cicatrices de Pêche et de Coing (1) la persistance de grains d'amidon dans le parenchyme sacrifié, alors qu'à la récolte tous les autres tissus en étaient dépourvus. Le même fait a été constaté sur d'autres organes végétaux et chez d'autres espèces, notamment par WILL ([253], p. 17) sur la tige d'*Abies canadensis*, par WARCOLLIER [244] sur des pommes, par KABUS [104] sur la pomme de terre, par COUTANT sur des Cactées [44], par NAKANO sur des plantules [168], etc. *La nécrobiose cellulaire empêche donc l'apparition ou le fonctionnement de l'amylase*. WARCOLLIER [244] suppose que cette incapacité de digérer l'amidon est due à la neutralisation de la diastase par les tanins, neutralisation observée précédemment par d'autres auteurs et que WARCOLLIER a vérifiée *in vitro*. Cette hypothèse est parfaitement applicable aux fruits étudiés ici car ils renferment des tanins en abondance dans leur suc cellulaire. Celui d'Iris fait exception mais il est en même temps dépourvu d'amidon.

d) *Contenu vacuolaire*. — Immédiatement après le traumatisme se produisent des variations d'acidité du suc cellulaire. Sur les coupes colorées vitalement au rouge neutre, alors que la coloration est normalement rose (Pêche, Abricot), j'ai observé parfois sur les bords des teintes virant au rouge ou à l'orange. Le virage est donc tantôt acide, tantôt alcalin. Déjà MOLISCH a observé un verdissement de l'anthocyane dans des cellules mortes de feuilles (2); mais généralement c'est le virage acide qui est considéré par les auteurs comme caractéristique (Ex.: SMALL) (3). Ce changement de réaction du suc cellulaire est accompagné ou suivi d'une diminution de pH du cytoplasme (PARAT [181], p. 304) et attribué à des phénomènes de cytolyse. Il n'est pas impossible que le contact de cellules vivantes avec l'atmosphère permette au gaz carbonique de s'échapper, ce qui expliquerait le virage alcalin parfois observé (VILÈS) (4). D'autre

(1) Exceptions signalées p. 66.

(2) D'après CZAPEK ([47], p. 587).

(3) Cité par KRENKE ([118], p. 144).

(4) D'après GUILLIERMOND ([84], p. 425).

part, GERBER ([72], p. 145) a vu des mandarines coupées brûler leurs acides organiques.

La destinée du contenu vacuolaire au cours de l'évolution de la cicatrice a été étudiée précédemment dans les paragraphes consacrés à la membrane et au cytoplasme.

D. *Noyau*. — Souvent, dans la partie mortifiée de la cicatrice, le noyau ne se distingue plus du cytoplasme ainsi que l'ont noté déjà SCHÜRHOFF [209], BÜNNING ([33], p. 7), etc. Dans les cellules où il était encore reconnaissable, j'ai pu observer les dégénérescences suivantes :

1° noyau vacuolisé (Pivoines; fig. 34 et 35);

2° noyau contracté fixant avec intensité et de façon homogène les colorants nucléaires (Pivoine fig. 35, Pêche, Lierre fig. 42);

3° noyau sphérique hétérogène dans lequel la chromatine est concentrée en plusieurs masses sphériques (Lierre, fig. 42);

4° noyau sphérique dépourvu d'affinité pour les colorants nucléaires (Lierre, fig. 42);

5° noyau à nucléoles déformés (*Paeonia arietina* fig. 34).

En suivant les déformations du noyau dans des cellules de plus en plus proches de la blessure, j'ai été amené à admettre, pour le Lierre, que l'apparition de boules chromatiques (3°) est un stade préliminaire de la pycnose (2°).

D'après certaines préparations, il m'a semblé que la dégénérescence nucléaire était ralentie au voisinage des faisceaux (*Paeonia arietina*).

La *vacuolisation* (1°) a souvent été observée à la suite d'une perte d'eau (NĚMEC [170] : plasmolyse; MATRUCHOT et MOLLIARD [149, 150] : fanaison et gel; etc.). BÜNNING [33] considère la vacuolisation comme le deuxième stade de la coagulation du noyau à la suite d'un traumatisme (*Allium ascalonicum*). Des cellules normales âgées présentent parfois des noyaux fortement vacuolisés; nous en avons vu un exemple chez l'Abricot.

La *pycnose* (2°) a été décrite sur les noyaux morts ou mourants de cellules variées (NĚMEC [172]; BONNET [25], etc.). Cet aspect extrêmement fréquent du noyau dégénéré termine une évolution figurée dans le livre de MAUMUS d'après SCHMAUS et ALBRECHT ([151], fig. 230); les étapes indiquées n'ont rien de commun avec

celles que j'ai signalées plus haut. NĚMEC ([172], p. 130) a observé chez *Picea excelsa* une succession de formes qui rappelle au contraire celle que j'ai observée : la chromatine forme d'abord des masses irrégulières qui se réunissent plus tard en une seule colorable de façon homogène, pour disparaître ensuite.

Le troisième mode de dégénérescence (*karyorrhexis*) a été fréquemment observé par BONNET [25] dans les étamines.

La disparition de l'affinité pour les colorants chromatiques (4°) ou « *lessivage de la chromatine* », que j'ai constatée chez le Lierre rappelle les observations faites par MATRUCHOT et MOLLIARD [148] sur le péricarpe de *Cucurbita* (fermentation propre), par GUILLIERMOND ([82], fanaison), etc.

Enfin, la déformation nucléolaire (5°) se rattache peut-être à l'« hypertrophie nucléolaire » signalée par BONNET.

Il est bien difficile d'analyser les facteurs de ces déformations. *La perte d'eau joue certainement un rôle* (Expériences de NĚMEC [170]; de GUILLIERMOND [82], de MATRUCHOT et MOLLIARD [150], etc.).

SCHÜRHOFF [209], et surtout BIRKHOFF [19] ont observé au voisinage des blessures des noyaux amiboïdes. Ces déformations sont accompagnées de changements transitoires dans la répartition de la chromatine ; un certain temps après le traumatisme on observe un retour de ces « *Arbeitskerne* » à l'état quiescent. BIRKHOFF qui a étudié cette évolution la rattache à des phénomènes hormonaux. Les noyaux plus ou moins amiboïdes que j'ai observés (Ex. : fig. 34) étaient plutôt morts ou mourants qu'en état d'hyperactivité.

4. Généralités sur le parenchyme sacrifié.

Dans toutes les espèces étudiées, il se constitue une lame de tissus morts parfois compacte par suite de l'écrasement des cellules. Nous avons vu que lorsque la blessure est surtout interne (piqûre, fente) la couche sacrifiée est très mince ou même discontinue. C'est donc le contact avec l'atmosphère sèche qui règle l'épaisseur de cette couche. Parfois (Groseille) le rabattement de la cuticule à la surface de l'escarre perfectionne la protection ; dans ce cas seulement j'ai retrouvé sur les fruits la « pseudocicatrice » de WYLIE [263]

comportant tissus en collapsus, épiderme rabattu et éventuellement latex ou résine.

Enfin, les tissus morts superficiels imbibés de suc cellulaire et de produits d'autolyse permettent l'existence de saprophytes variés : bactéries et champignons filamenteux qui peuvent pénétrer profondément s'ils ne rencontrent pas de barrière ligno-subéreuse. La cuticule des fruits sains porte de nombreux germes auxquels la blessure offre une bonne occasion de proliférer ; BEIJERINCK et RANT ont noté par exemple la fréquence sur les drupes d'Amygdalées de *Dematium pullulans* ([14], p. 193). WYLIE a vu les saprophytes se développer surtout sur les blessures de feuilles dont les lacunes restent béantes (*Berberis nervosa* [265], p. 285).

Comment prend naissance et se développe le parenchyme sacrifié ? Le rasoir tranche un certain nombre de cellules qui ne tardent pas à mourir ; jamais je n'en ai vu régénérer une membrane et résister à l'opération. MIRANDE [157], MILLOT [155], KRENKE ([118], p. 143) rapportent au contraire des exemples curieux de régénération.

Sous les cellules directement atteintes, d'autres ne tardent pas à entrer en nécrobiose et, peu à peu, des couches de plus en plus profondes succombent tant que la lame ligno-subéreuse ne se constitue pas en barrière protectrice. Quelles sont les causes de la mort de ces cellules de plus en plus internes ? On peut penser :

- 1° à la perte d'eau due à l'ablation de tissus protecteurs ;
- 2° à une excitation mécanique capable de se transmettre d'une cellule à une autre ;
- 3° à une action nuisible de produits issus des cellules mortes les plus externes.

1° La perte d'eau intervient certainement car si on la modère (blessures profondes à communication restreinte avec l'extérieur, cicatrisation en chambre humide), la mort ne frappe plus qu'un petit nombre de cellules (Iris, fig. 64). On sait (GIARD [74], AMAR [4], PIANTEPOL [186]) que la perte d'eau entraîne un ralentissement de multiples fonctions cellulaires. C'est évidemment la couche la plus externe qui se dessèche la première, dessiccation lente car l'eau d'imbibition, l'eau de capillarité sont énergiquement retenues. Au début, cette perte d'eau détermine une augmentation de pression osmotique dont la conséquence est un appel d'eau adressé aux cellules

sous-jacentes : ainsi se transmet de proche en proche l'influence desséchante du milieu extérieur. Ce mécanisme a été bien étudié par PRINGSHEIM ([192], pp. 106, 108) et par HOLLE ([98], pp. 74, 76, 122) en particulier. Au bout d'un certain temps, il est probable que l'équilibre des tensions de vapeur se réalise entre le milieu extérieur et la cellule, mais à ce moment la cellule est morte : la dessiccation excessive a entraîné une coagulation irréversible du cytoplasme ou la dissociation de ses complexes lipoprotéiques (LEPESCHKIN [128]). Si l'atmosphère extérieure est très sèche, il se constitue une croûte solide protectrice à la surface de la blessure (fréquemment observée l'été). Si au contraire l'atmosphère est modérément humide, le fruit perd d'abord moins d'eau mais le jeu des forces osmotiques déclenche une sorte de courant très lent de l'intérieur du fruit vers la blessure, et progressivement tout le fruit meurt si la ligno-subérisation n'est pas assez rapide : ce résultat est fréquemment atteint sur les fruits de Lierre opérés l'hiver.

2^o LEPESCHKIN a montré qu'un traumatisme détermine la coagulation du cytoplasme. D'après BÜNNING [32], cette coagulation est suivie d'une augmentation de perméabilité et d'une diminution de pression osmotique. Ces phénomènes permettent le passage de substances dissoutes de la cellule excitée aux cellules voisines ; parmi ces substances, certaines seraient capables de déterminer la coagulation avec toutes ses conséquences. L'auteur a montré que l'excitation se propage beaucoup plus loin de la lésion en l'absence qu'en présence d'eau [33]. Pour lui, l'excitation mécanique se ramène à la diffusion d'une substance (« Reizstoff ») issue de la surface.

3^o Influence des substances issues de cellules mortes externes. Pour BÜNNING [33], le « Reizstoff » coagulant est un produit inorganique, sans doute un mélange de sels. Si la blessure est en contact avec de l'eau, le « Reizstoff » y diffuse et une faible fraction seulement agit sur les cellules profondes, d'où une moins grande extension de la couche sacrifiée (cf. plus haut, fig. 65). Divers auteurs. (Ex. : FRANK [62], p. 102) ont pensé que les produits acides issus des cellules mortes pouvaient nuire à leurs voisines vivantes ; HERKLOTS [92] a montré dans ses recherches sur la pomme de terre, que l'épaisseur des tissus morts au voisinage des lésions est plus grande aux pH 4,6 à 5 que dans la zone 5,5-5,7, et surtout qu'au voisinage de la neutralité. *Il est donc probable que les produits issus des*

premières cellules mortes sont aussi responsables que la dessiccation de l'extension en profondeur de la zone nécrosée.

Enfin MASSART ([147], p.50) a montré que l'étendue de la région mortifiée dépend de l'âge de l'organe blessé : elle est plus grande dans une vieille feuille de *Clivia* que dans une jeune. On peut d'après ce résultat concevoir la chute des fruits non cicatrisés comme la conséquence d'une extension du parenchyme sacrifié jusqu'au niveau de l'insertion sur l'axe. Là seulement s'élaborerait une cicatrice.

Lorsque la plante a sacrifié une épaisseur suffisante de parenchyme, cette escarre joue un rôle protecteur certain et ne laisse s'échapper des tissus plus internes qu'une quantité d'eau très minime. WYLIE a montré [265] la nécessité de la « pseudocicatrice » pour que puissent proliférer les cellules profondes génératrices de la « cicatrice vraie ».

5. Régression de l'amidon.

Dans les cellules vivantes situées sous le parenchyme sacrifié, on observe toujours une résorption de l'amidon lorsque celui-ci était présent lors du traumatisme (jeunes pêches par exemple). La disparition de cette réserve au voisinage des blessures a été constatée déjà par de nombreux auteurs et sur des objets variés ; par exemple : BRETFELD ([28], p. 135), PRILLIEUX [191], MASSART ([147], p. 34), TISON ([229], p. 54), DEVAUX ([50], p. 71), OLUFSEN ([179], p. 286), APPEL ([6], p. 122), FRIEDRICH ([65], p. 15), KABUS ([104], p. 10), COUËTANT ([44], p. 357), WEIMER et HARTER ([249], p. 637), NAKANO [168], GARMS ([68], fruits).

Cet amidon intervient-il dans la métamorphose des membranes ? Les sucres solubles qui en dérivent peuvent avoir bien d'autres destinations indiquées dans le schéma ci-dessous et entre lesquelles l'expérience ne permet pas actuellement de choisir.

Les sucres solubles dérivés de l'Amidon peuvent être :	Fixés par les débris cellulaires après la mort.
	Brûlés (NAKANO [168]).
	Transformés en acides subérogéniques (APPEL [6], KABUS [104], GRÜSS [81]).
	Utilisés à la lignification.
	Transportés dans les tissus vivants internes (KABUS [104]).
	Transformés en albumines (FRIEDRICH [65]).

(à suivre)

NÉCROLOGIE

Au moment de mettre sous presse ce fascicule, nous apprenons, avec une douloureuse émotion, la mort de M. J. COSTANTIN, membre de l'Institut, professeur honoraire au Museum national d'Histoire naturelle. Le défunt était le beau-frère du regretté Gaston BONNIER, le fondateur de cette Revue : et il avait, entre autres, publié, sur l'action du milieu sur les végétaux, de nombreux travaux qui eurent alors un grand retentissement. Il s'était aussi beaucoup intéressé à l'étude des Champignons, en particulier à celle des mycorhizes qui firent l'objet des travaux de son élève Noël BERNARD. Nous nous proposons, du reste, de consacrer prochainement une notice biographique, dans cette Revue, au regretté disparu.

TABLE DES ARTICLES ORIGINAUX CONTENUS
DANS LE TOME QUARANTE-HUIT

Charles FLAHAULT (1852-1935), avec une planche, par M. Louis EMBERGER.....	1
Recherches sur la formation des stériles dans les chloroplastes de certaines Cactées, avec 3 figures dans le texte et 2 planches, par Mlle J. MANUEL.....	49
Sécrétion intraovarienne chez la Nielle (<i>Agrostemma Githago</i> L.), avec 4 planches, par MM. M. MOLLIARD et R. ECHEVIN.....	81
Les bifurcations chez les Hépatiques à feuilles, avec 3 planches, par M. Ch. DOUIN.....	94
Contribution à la connaissance des potentiels d'oxydo-réduction provoqués par le métabolisme des Bactéries acétiques, par Mlle Marguerite COZIC.....	141
Recherches physiologiques et cytologiques sur quelques espèces du genre <i>Pythium</i> , avec 6 figures dans le texte et 7 planches, par M. R.K. SAKSENA.....	156, 215, 273
Etude de la variation de la perméabilité cellulaire en fonction de la température, avec 5 figures dans le texte, par M. A. FAMIN.....	189
Croissance de diverses Bactéries acétiques en anaérobiose, par Mlle Marguerite COZIC.....	209
Influence du cyanure de potassium sur la respiration de quelques Bactéries acétiques, par Mlle Marguerite COZIC.....	212
Diptéroécidies produites par <i>Rhopalomya Millefolii</i> (H. Low) sur <i>Achillea Millefolium</i> , avec 10 figures dans le texte, par M. Pierre LEGÉE.....	253
L'accumulation dans la tige et la racine du <i>Salix fragilis</i> des substances azotées perdues par les feuilles au cours du jaunissement automnal, avec 1 figure dans le texte, par Mlle Andrée MÉGOT.....	317
Mécanisme de la formation des sutures et de leur groupement sur la membrane des <i>Closterium</i> , avec 34 figures dans le texte, par M. LÉFÈVRE.....	324
Réaction des fruits aux blessures expérimentales, avec 3 figures dans le texte, par M. Roger ULRICH.....	354, 427, 494, 539, 621, 676, 725
Action du milieu extérieur sur le métabolisme végétal VI. Les variations de la pression osmotique chez une plante herbacée développée à des intensités lumineuses différentes, avec 4 figures dans le texte, par Mme Odette SALLES.....	377
Recherches sur la génétique des Ascomycètes, avec 18 figures dans le texte et 1 planche hors-texte, par M. F. MOREAU et Mlle MORUZZI.....	393, 460, 518, 613, 658

Nouvelles observations sur la sexualité des Levures et quelques considérations sur la phylogénie de ces Champignons, avec 9 figures dans le texte et 12 planches hors-texte, par M.A. GUILLIERMOND		403, 470
Etude d'une Levure du genre <i>Zygosaccharomyces</i> : <i>Z. Ashbyii</i> n. sp., avec 10 figures et 1 planche, par Mlle M. CORDOCH		441
Sur quelques formes biologiques du phosphore des feuilles chez les arbres, par M. R. ECHEVIN		505
Flexions pathologiques des rameaux d' <i>Epicea</i> , avec 10 figures dans le texte, par M. Raymond SCHNELL		569
Recherches comparatives sur la transpiration de quelques espèces ligneuses et herbacées du Bas-Languedoc, avec 14 graphiques dans le texte et 1 planche hors texte, par M. J. GIROUX et Mlle SOROCEANU		589, 633
Le métabolisme du sucre dans la fermentation alcoolique, par M. H. COLIN		697
Observations biologiques sur les genres <i>Cydonia</i> Mill., <i>Chaenomeles</i> Lindl. et <i>Docynia</i> Decne par M.V.A. EVREINOFF		711
Résolutions adoptées par le sixième Congrès international de Botanique (Amsterdam) 2-7 septembre 1935		128
Nécrologie		80, 136, 632, 760
Chroniques et Nouvelles		136
Bibliographie		138, 311, 562

TABLE DES PLANCHES CONTENUES DANS LE TOME QUARANTE-HUIT

Planche I. — Ch. FLAHAULT.
Planche II. — Cellules d' <i>Echinocereus procumbens</i> avec stérino-chloroplastes.
Planche III. — Coupes d' <i>Echinocereus procumbens</i> fixées au Regaud et colorées à l'hématoxyline.
Planches IV, V et VI. — <i>Agrostemma Githago</i> L.
Planche VII. — <i>Agrostemma bicolor</i> Lind.
Planches VIII, IX et X. — Bifurcations chez les Hépatiques à feuilles.
Planches XI et XII. — <i>Pythium deliense</i> .
Planche XIII. — <i>Pythium deliense</i> , de <i>Baryanum</i> , <i>mamillatum</i> et <i>indigoferae</i> .
Planche XIV. — <i>Pythium deliense</i> et <i>mamillatum</i> .
Planches XV et XVI. — <i>Pythium deliense</i> .
Planche XVI bis. — <i>Pythium indigoferæ</i> , <i>mamillatum</i> , de <i>Baryanum</i> et <i>deliense</i> .
Planche XVII. — <i>Neurospora sitophila</i> Shear et Dodge.
Planche XVIII à XXVIII. — <i>Saccharomyces paradoxus</i> .
Planche XXIX. — <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> , race <i>Johannisberg II</i> .
Planche XXX. — <i>Zygosaccharomyces Ashbyii</i> n. sp. et <i>Zygosaccharomyces Marxianus</i> .
Planche XXXI. — Balance portative Bunge-Stocker.

TABLE DES ARTICLES ORIGINAUX
DU TOME QUARANTE-HUIT PAR NOMS D'AUTEUR

COLIN (H.). — Le métabolisme du sucre dans la fermentation alcoolique.....	697
CORDROC'H (Mlle M.). — Etude d'une Levure du genre <i>Zygosaccharomyces</i> : <i>Z. Ashbyii</i> n. sp., avec 10 figures et 1 pl.	441
COZIC (Mlle M.). — Croissance de diverses Bactéries acétiques en anaérobiose.....	209
COZIC (Mlle M.). — Influence du cyanure de potassium sur la respiration de quelques Bactéries acétiques.....	212
COZIC (Mlle M.). — Contribution à la connaissance des potentiels d'oxydo-réduction provoqués par le métabolisme des Bactéries acétiques.....	141
DOUVIN (Ch.). — Les bifurcations chez les Hépatiques à feuilles, avec 3 planches.....	94
ECHEVIN (R.). — Sur quelques formes biologiques du phosphore des feuilles chez les arbres.....	505
ECHEVIN (R.). — Voir : MOLLIARD.	
EMBERGER (L.). — Charles Flahault (1852-1935), avec 1 planche.....	1
EVREINOFF (V.A.). — Observations biologiques sur les genres <i>Cydonia</i> Mill., <i>Chaenomeles</i> Lindl., et <i>Docynia</i> Decne....	711
FAMIN (A.). — Etude de la variation de la perméabilité cellulaire en fonction de la température, avec 5 figures dans le texte.....	189
GIROUX (J.) et SOROCEANU (Mlle). — Recherches comparatives sur la transpiration de quelques espèces ligneuses et herbacées du Bas-Languedoc, avec 14 graphiques dans le texte et 1 planche hors-texte.....	589, 633
GUILLIERMOND (A.). — Nouvelles recherches sur la sexualité des Levures et quelques considérations sur la phylogénie de ces Champignons, avec 9 figures dans le texte et 12 planches hors-texte.....	403, 470
LEFÈVRE. — Mécanisme de la formation des sutures et de leur groupement sur la membrane des <i>Closterium</i> , avec 34 figures dans le texte.....	324
LEGÉE (Pierre). — Diptéroécidies produites par <i>Rhopalomya Millefolii</i> (H. Low) sur <i>Achillea Millefolium</i> , avec 10 figures dans le texte.....	253